

SULLA STRUTTURA DEI CROMOSOMI IN NUCLEI IPERPLOIDI DI *GRYLLOTALPA GRYLLOTALPA* L.

(CELLULE DI RIVESTIMENTO DEL TESTICOLO E CELLULE GERMINALI)

Von

CLAUDIO BARIGOZZI

(Istituto di Zoologia della R. Università di Milano).

Con 15 figure nel testo.

(Eingegangen am 10. September 1942.)

Introduzione.

La struttura dei cromosomi nei nuclei in riposo diploidi e poliploidi — somatici e germinali — è stata studiata recentemente da diversi AA., e, in generale, si può dire che le conclusioni raggiunte concordano nel confermare la esigenza teorica posta dalla Genetica: che i cromosomi, durante il riposo nucleare, si mantengono in forma di cromonemi a spirali irregolari. Scarsa fissabilità e colorabilità sono le sole caratteristiche negative che rendono poco visibili i cromosomi nei nuclei in riposo, tranne in pochi casi eccezionali. In pratica gli aspetti dei nuclei in riposo si possono classificare nel modo seguente:

1. Quello, più frequente, del nucleo con aspetto di gomitolo di filamenti sottilissimi e sinuosi, che rappresenta il caso generale e viene talvolta chiamato nucleo reticolato (MANTON 1935), e, io credo, impropriamente, perché il reticolo presuppone le anastomosi tra i filamenti, le quali in realtà non esistono.

2. Quello del nucleo di tipo „salivare“ dei Ditteri con cromonemi omologhi quasi despiralati, in sinapsi stabile (nuclei poliploidi).

3. Quello del nucleo, per es. della *Spirogyra* (GEITLER 1935), dove si riconoscono solo piccole porzioni eterocromatiche (nucleo acromatico), mentre il resto generalmente non è colorabile (GEITLER 1935).

4. Quello descritto in nuclei diploidi e poliploidi di molti Rincoti da GEITLER (1937, 1938, 1939, 1940, 1941), in alcune cellule di *Artemia salina* (BARIGOZZI 1942), dove i cromosomi mantengono un aspetto contratto e colorabile, anche se a contorni indecisi.

5. Infine vi sono nuclei con una reale struttura reticolare, alveolare o spugnosa, cioè con cromonemi anastomizzati irregolarmente tra loro: le osservazioni più sicure si riferiscono a nuclei che non si dividono più, nei quali perciò può andare perduta l'individualità dei cromosomi (BARIGOZZI 1942).

I nuclei descritti nei diversi tessuti con aspetto granulare, alveolare o spugnoso sono oggi generalmente considerati artefatti tecnici: i granuli appaiono in seguito alla sezione trasversale dei cromonemi; le anastomosi

tra i cromonemi possono realizzarsi come prodotto di alterazione quando siano avvenuti smescolamenti per opera di fissatori, oppure risultano solo da un fenomeno apparente, derivato dal numero elevato e dalla lunghezza dei cromosomi che simulano diramazioni e ponti tra l'uno e l'altro, quando in realtà si tratta solo di accostamenti tra elementi vicini.

Oltre ai cromosomi filamentosì, detti anche eucromatici, si riscontrano cromosomi interi o porzioni di cromosomi dall'aspetto contratto: è noto che a questi si dà il nome di parti eterocromatiche dell'assetto, che possono rimanere staccate o fondersi in zolle o masse globose, distinte col nome di cromocentri.

Infine nel nucleo in riposo si nota almeno una formazione sferoidale, colorabile con molte sostanze coloranti acide, e scarsamente tingibile con la reazione di FEULGEN: il nucleolo.

Concludendo: i tre elementi figurati del nucleo in riposo sono: i cromonemi eucromatici, le masse eterocromatiche e il nucleolo (o i nucleoli). Essi sono immersi nel succo nucleare.

Se si può dire che — su queste basi — il contenuto morfologico del nucleo sia abbastanza noto, non altrettanto si può affermare per la struttura che, specialmente le parti eucromatiche, presentano nei singoli casi. Quando queste si appalesano senz'altro come filamenti (allineamenti di cromomeri) avvolti in spirali irregolari, non si presentano altri particolari problemi. Ma se invece — come nel caso dei Rincoti — essi assumono piuttosto l'aspetto di masse dai contorni poco definiti, resta da identificare la loro struttura intima, o — in altri termini — resta da vedere di quanto essa differisca da quella a filamento sinuoso, che si assume generalmente come tipica.

Nei confronti dei Rincoti, non è stato ancora detto con precisione come debba essere considerata la struttura di questi cromosomi in riposo. GETTLER, nel suo ultimo lavoro del 1941, non aggiunge nulla a quanto affermò nel suo trattato del 1938, dove — a pag. 125 — riconosce che gli autosomi eucromatici si mantengono pressochè inalterati durante il riposo nucleare. Perciò si potrebbe pensare che la spiralizzazione e la contrazione rimangano pressochè invariate anche a mitosi o endomitosi ultimata.

Ritengo che sia degno di interesse chiarire meglio i fenomeni caratteristici dei cromosomi che durante il riposo nucleare presentano un aspetto diverso da quello che abbiamo indicato come tipico (filamenti a spirali), e perciò ho preso in esame le cellule di rivestimento dei follicoli testicolari di *Gryllotalpa gryllotalpa* L. e cellule aberranti che fanno parte del contenuto dei follicoli stessi; le prime, se pure derivate forse — WINIWARTER 1927 — da cellule germinali primitive, sono cellule somatiche; le seconde possono essere ritenute cellule germinali.

Materiale e metodo.

Il materiale studiato (*Gryllotalpa gryllotalpa* L., forma con $2n = 18$)¹ venne raccolto nella primavera e nell'estate del 1941 tra Milano e Pavia. Furono preparati maschi appartenenti ai diversi stadi larvali, ninfali e adulti (per la descrizione degli stadi v. CONTE 1928), e anche alcune femmine (larve e ninfe).

Le gonadi vennero estratte dal corpo e immediatamente trattate. La colorazione usata fu prevalentemente quella col carminio acetico (colorazione per 1 ora e $\frac{1}{4}$ di frammenti di meno di $\frac{1}{2}$ cm³), con cui furono allestiti preparati permanenti, montati in euparal. Una parte del materiale venne fissato in ZENKER, e servì per la reazione di FEULGEN, eseguita su frammenti poi schiacciati (tempo di idrolisi: 15 min.). Alcuni stadi furono controllati su preparati in sezione fissati con Champy e colorati con ematossilina ferriica, che avevano servito per una mia precedente ricerca (1933).

I preparati furono osservati con luce verde (filtro Lifa) e obj. $\frac{1}{15}$ imm. Koristka, oc., 18 comp. Zeiss. I disegni vennero ricavati colla camera lucida di Abbe. Le misurazioni dei cromosomi vennero eseguite coll'ausilio del curvinmetro, per gli stadi ad andamento sinuoso, come per es. il pachitene.

Osservazioni.

I. Cellule di rivestimento del testicolo.

Il testicolo del grillotalpa consta di un gran numero di follicoli piriformi, che sboccano, mediante brevi canalicoli, nel condotto deferente. Questa descrizione (che io riconfermo) si ricava da un lavoro di WINLWARTER (1927), nel quale si accenna all'esistenza di un rivestimento cellulare dei follicoli, i caratteri citologici del quale non sono però descritti. Dai miei preparati risulta che devono essere distinte due categorie di cellule: quelle grandi che rivestono con un unico strato i follicoli, e quelle assai più piccole, che rivestono i condotti. Queste ultime hanno una struttura nucleare poco decifrabile, e non sembrano costituire un materiale interessante. Le prime invece meritano di essere esaminate nei loro particolari.

Dirò subito che uno dei caratteri principali di queste cellule di rivestimento è quello di presentare parecchi aspetti caratteristici delle cellule poliploidi: più avanti passerò in rassegna gli elementi favorevoli a questa tesi. In relazione a quanto ho detto, distinguerò le osservazioni fatte a seconda del loro oggetto, nel modo seguente:

a) eterocromatina,

b) nucleolo,

c) cromonemi eucromatici.

a) **L'eterocromatina.** La reazione di FEULGEN mette in evidenza due masse intensamente colorabili (talvolta 3 o 4), compatte e di contorno angoloso: non esito ad interpretarle come masse di eterocromatina, cioè come cromocentri (fig. 1).

¹ Il numero diploide 18 è nuovo per il *Gryllotalpa* italiano: sinora erano conosciute due „razze“ citologiche: a 12 (Nord Italia) e a 15 cromosomi (Campania).

Constatato ciò, resta da vedere a che cosa corrispondono; sono infatti possibili due eventualità: 1) Che siano formate da cromosomi interamente eterocromatici, 2) che risultino dal confluire di porzioni eterocromatiche appartenenti a cromosomi diversi.

Per stabilire questo, è necessario conoscere anzitutto le condizioni delle masse eterocromatiche in cellule sicuramente diploidi, e ho esaminato perciò le spermatogonie (fig. 9a), constatando che esse generalmente contengono un solo cromocentro, e talvolta due più piccoli. Da ciò si può dedurre che nell'assetto diploide vi sono almeno due masse eterocromatiche primitive, che, generalmente, si fondono in un cromocentro solo. E' assai meno probabile pensare che la condizione primitiva sia l'inversa, perché è noto (per es. nei nuclei dei Ditteri) che varie parti

eterocromatiche tendono a fondersi in una massa unica. Se dunque vi sono delle zone eterocromatiche che si fondono assieme, si può tentare di identificare dove esse siano situate nei cromosomi mitotici. È noto che (DARLINGTON 1937, pagg. 307—309) quei fenomeni di diversa contrazione, spiralizzazione e condensazione (eteropicnosi), sui quali si basa la distinzione tra eucromatina (non contratta nel riposo) ed eterocromatina (contratta nel riposo), possono rivelarsi durante la profase

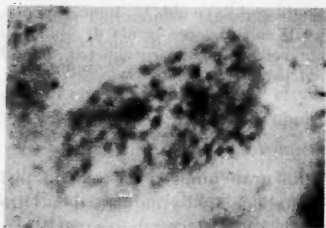


Fig. 1. Nucleo di rivestimento del testicolo, con due cromocentri e cromosomi moderatamente contratti. Color. colla reazione di FEULGEN. (Ingr. circa 550 volte.)

e la telofase, oppure durante gli stadi pachitene e diplotene. Siccome le profasi e le telofasi del grillotalpa non si dimostrano adeguate all'osservazione (sono probabilmente stadi troppo rapidi), ho preferito prendere in esame il pachitene. In questa fase della meiosi si distinguono generalmente due estremità cromosomiche eteropichnotiche (= eterocromatiche), e sembra logico ritenere che queste rappresentino la principale origine del materiale che nel riposo si fonde a formare il cromocentro (fig. 2). Naturalmente vi possono essere altri tratti eterocromatici, forse troppo piccoli per essere visibili, intercalati lungo i cromosomi. Il fatto che ci siano due estremità eterocromatiche spiega però il fatto che, talvolta, nelle cellule diploidi ci siano due cromocentri, e che in quelle presunte poliploidi (tetraploidi), dove se ne contano quasi sempre due, se ne possano avere anche tre o quattro.

Il numero dei cromocentri ci permette di raccogliere un elemento importante per apprezzare il numero cromosomico, nelle cellule poliploidi. Se un cromocentro corrisponde a $2n$ ($= 18$), due cromocentri corrispondono a $4n$ ($= 36$), cioè alla condizione tetraploide. Possiamo già dire, dunque, che le cellule di rivestimento dei follicoli del testicolo, se sono fornite di due cromocentri, sembrano essere tetraploidi. L'indizio

sarebbe più sicuro se la tendenza a fondersi tra porzioni diverse di eterocromatina fosse più intensa, o se vi fossero i cromosomi sessuali interamente eterocromatici, come nel caso di *Gerris* e di altri Rincoti (GERRLER 1937). Invece quest'ultima possibilità è da scartare del tutto, perché il comportamento degli eterocromosomi (che esistono in numero di due nel maschio) non lascia dubbio anche durante la diacinesi. La fig. 3 illustra un caso di 8 tetradi, dove è evidente lo stesso grado di spiralizzazione e di contrazione in ciascuna di esse.



Fig. 2.

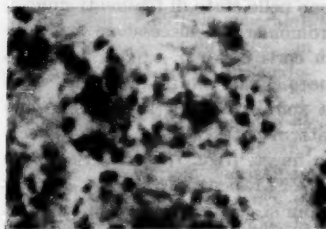
Fig. 2. Coniuganti allo stadio pachitene: due di essi hanno una estremità eterocromatica. Color. col carminio acetico (Ingr. circa 1750 volte).



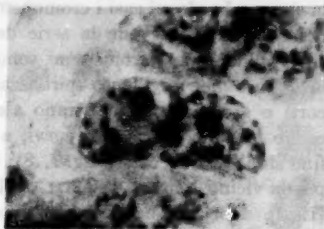
Fig. 3.

Fig. 3. Tetradi diacinetiche. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

b) Il nucleolo. In ogni cellula diploide (spermatogonia) vi è di regola un nucleolo solo. Esso si associa intimamente al cromocentro, formando un corpo unico che si tinge fortemente coll'ematossilina ferrica. Col



a



b

Fig. 4 a e b. Nuclei di cellule di rivestimento del testicolo; ogni nucleo (presumibilmente tetraploide) ha due cromocentri accollati ai nucleoli, e i cromosomi contratti. Color. col carminio acetico (cfr. fig. 1 colla reazione di FEULGEN). (Ingr. circa 1750 volte.)

carminio acetico (fig. 4) il nucleolo è quasi sferico e appare come una goccia; colla reazione di FEULGEN risulta un'ombra leggerissima, collocata immediatamente vicino al cromocentro. Nelle cellule di rivestimento dei follicoli del testicolo, vi sono due nucleoli quando vi sono

due cromocentri: ogni cromocentro regola dunque la formazione di un nucleolo. Il significato della associazione tra nucleolo e cromocentro verrà esaminata più avanti, nella discussione dei risultati. Qui ricorderò solo brevemente che WINIWARTER (1927) applicò diversi metodi di colorazione allo studio del nucleoli nelle spermatogonie di questa specie, determinando che ne esiste uno o due; ma i suoi risultati non sono confrontabili coi miei (anche se coincidenti), perché, colla tecnica da lui impiegata (usò diversi metodi, ma non la reazione di FEULGEN), non gli era possibile differenziare il cromocentro dal nucleolo, nel modo che si intende oggi.

e) I cromonemi eucromatici. I cromonemi devono essere considerati dal punto di vista della struttura e del numero.

Cominciamo con il primo punto.

La prima constatazione da fare è che i nuclei delle cellule in questione sono quasi sempre in riposo, e non mostrano frequentemente stadi sicuri



Fig. 5. Cromosomi di nucleo probabilmente tetraploide: è evidente la struttura a spirale completa (a destra) o parziale (a sinistra). Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

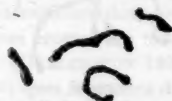


Fig. 6. Cromosomi di cellule di rivestimento del testicolo, con struttura interna mascherata da un pallido rivestimento di matrice. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

di mitosi o di endomitosi: ciò non ostante la loro struttura non è sempre la stessa. In alcuni casi i cromonemi sono nello stato di filamenti sinuosi, nei quali si intravede la serie dei cromomeri in successione spiralata (fig. 5); in altri, i cromonemi sono più corti e grossi, e pure mostrano una più o meno evidente spiralizzazione; nei casi più frequenti essi sono corti e grossi e non mostrano alcuna spiralizzazione (fig. 6). Possono essere bastoncini dritti o curvi, a contorni netti o vaghi, talvolta perfino simili a nubecole (figg. 7, 8); sono questi (figg. 7, 8) che ricordano più da vicino le figure di GETTLER (1937) per i Rincoti e le mie per *Artemia* (1942). In tutti questi aspetti diversi non si scorge mai una spaccatura longitudinale e non si riconoscono altri elementi per attribuire loro il significato di stadi di endomitosi: l'elemento più convincente per escludere ogni fenomeno di divisione è, secondo me, desumibile dalla persistenza dei cromocentri, che durante l'endomitosi devono trasformarsi in porzioni di cromosoma. Sono perciò incline a pensare che in questi nuclei si realizzi (anche lontano da fenomeni di riproduzione cromosomica) un grado di accorciamento variabile in casi diversi, che spesso è sufficiente a renderli visibili e distinguibili, malgrado la loro distribuzione caotica nello spazio nucleare. Che i numerosi stadi contratti non siano (almeno

di norma) in rapporto con endomitosi è anche provato dal fatto che questi stadi sono frequenti, mentre le vere endomitosi devono

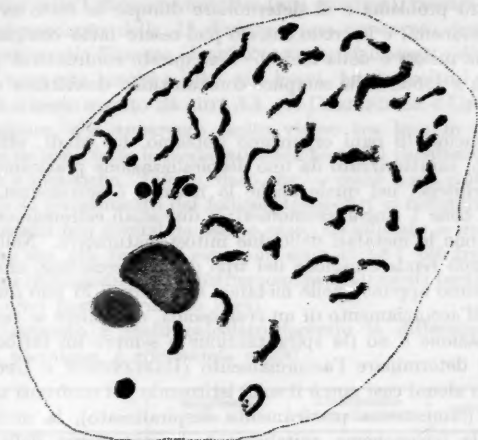


Fig. 7. Nucleo di cellula di rivestimento del testicolo mostrante i cromosomi nel loro aspetto più comune. Color. col carminio acetico. Fu disegnata solo una parte dei cromosomi; si vedono alcuni nucleoli. (Ingr. circa 1750 volte.)

essere rare: infatti queste cellule — dato il numero dei cromocentri — non potrebbero essere più che tetraploidi (in generale), e ciò equivale a dire che, in ogni cellula, ha luogo una endomitosi sola.

Sembra — in conclusione — che questi cromosomi possano essere più o meno accorciati, in diversi nuclei. Si tratta ora di vedere più da vicino quale sia la loro struttura.

Siccome un cromosoma consta essenzialmente del cromonema e della matrice, le sue caratteristiche particolari, nei diversi stadi, sono sostanzialmente da riferirsi a diversi modi di spiralizzazione del cromonema e di contrazione della spirale, in parte per opera forse della matrice (KUWADA 1939, BARIGOZZI 1942), oppure ad



Fig. 8. Cromosomi di cellule di rivestimento con forma diffusa in nucleo octoploide. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

accorciamento senza spiralizzazione dovuto ad altre cause (DARLINGTON e UPCOTT 1939, RESENDE 1940).

Il nostro problema è di determinare dunque lo stato in cui si trovano i cromonemi, e io credo che ciò può essere fatto comparando stadi adatti della mitosi e della meiosi. Con questo confronto si può andare un po' più a fondo della semplice constatazione descrittiva dell'aspetto esteriore.

Nella meiosi di ogni organismo abbiamo due stadi, utili a questo scopo: uno, caratterizzato da uno despiralizzazione praticamente totale, ed è il pachitene, nel quale anche la matrice è scarsissima, tanto che si vedono bene i singoli cromomeri; e due stadi estremamente spiralizzati, che sono le metafasi delle due mitosi maturative. Nella diacinesi, poi, ci si può rendere ragione del tipo di spiralizzazione, che raggiunge poi il massimo appunto nelle metafasi successive. Si può dunque avere un'idea dell'accorciamento di un cromosoma, e decidere se esso è dovuto a spiralizzazione o no (la spiralizzazione è sempre un fattore di primo ordine nel determinare l'accorciamento (DARLINGTON e UPCOTT 1939), anche se in alcuni casi non è il solo) istituendo dei confronti tra lo stadio pachitene (cromonema praticamente despiralizzato), la metafase spermatogoniale (cromonema spiralizzato), il cromosoma delle cellule di rivestimento dei follicoli testicolari (di cui dobbiamo determinare la struttura) e la metafase della I divisione di maturazione (stadio a fortissima spiralizzazione).

Questo confronto conduce a determinare l'entità dell'accorciamento rispetto allo stadio pachitene, e questo è l'unico tentativo che si possa fare con questo materiale: infatti l'impossibilità di compiere un conteggio delle spirali e di misurare esattamente lo spessore dei cromosomi, dato che questo è variabile e la figura generale dei cromosomi delle cellule in questione si stacca notevolmente da quella del cilindro, preclude il calcolo della contrazione (packing, sec. DARLINGTON e UPCOTT 1939). Nella tabella sono indicati i risultati delle misurazioni, insieme al coefficiente di spiralizzazione secondo il metodo di DARLINGTON e UPCOTT (seconda colonna). Però io faccio subito qualche riserva (e dirò poi nella discussione perchè) circa il valore di questo coefficiente.

Il valore di questo confronto quantitativo va inteso però colle limitazioni seguenti. Due stadi cromosomici caratterizzati da lunghezze differenti possono venire paragonati esattamente tra loro solo quando essi possono venire misurati con la stessa esattezza. Ora, i cromosomi metafasici sono poco deformabili, mentre i cromosomi pachiteni possono subire un allungamento artificiale in seguito allo schiacciamento, e, generalmente, si presentano con un andamento sinuoso (anch'esso in parte dovuto allo schiacciamento), che rende difficili le misurazioni. Perciò il confronto deve essere accolto con cautela e gli deve essere attribuito solo un valore

approssimativo. Circa il metodo seguito dirò quanto segue: ho disegnato numerosi cromosomi pachitени e metafasi delle divisioni spermatogoniali e della I divisione mitotica (una trentina), mentre quelli dello stadio corrispondente della II divisione non apparvero perfettamente chiari nei preparati. Siccome alcuni cromosomi dell'assetto di *Gryllotalpa gryllotalpa* sono più lunghi e altri più brevi, ho prescelto i più lunghi, seguendo il criterio seguito da altri AA. (v. DARLINGTON e UPOOTT 1939). Prese le misure, che apparvero molto vicine tra loro in ogni stadio studiato, se ne sono fatte le medie aritmetiche per il pachitene e le metafasi goniali e meiotiche. Invece, dato che — come è già stato detto — nelle cellule di rivestimento dei follicoli testicolari si riscontrano cromosomi con aspetti ben diversi da caso a caso, ho indicato le misure medie per ciascuno dei più tipici di essi, che sono anche i più frequenti. In questi ultimi cromosomi non si distinguono bene elementi particolarmente lunghi da altri particolarmente brevi.

L'accorciamento è stato calcolato facendo la differenza fra ogni stadio e il pachitene, e riferendola a 100.

	lunghezza in μ .	Coefficiente di spiralizzazione	accorciamento
Pachitene	30,0	—	—
Metafase goniale ♂ e ♀	8,0	3,7	73/100
I metafase della meiosi	5,0	6,0	83/100
Nuclei delle cellule di rivestimento dei follicoli del testicolo	17,0	1,8	43/100
	7,5	3,8	78/100
	5,0	6,0	83/100
	3,3	9,0	89/100
Metafasi di queste cellule ¹	0,5 (?)	60,0(?)	93/100 (?)

L'accorciamento, come si vede, è massimo per la metafase I della meiosi, e ciò corrisponde a quanto è generalmente conosciuto. Ora mettiamo in relazione l'accorciamento colla struttura dei singoli stadi.

1. *Metafase goniale* (fig. 9). I cromosomi si individualizzano durante una breve profase assai difficilmente analizzabile, perciò non si può dire quanta parte abbia avuto la spiralizzazione nel produrre l'accorciamento ingente, che è intorno a 73/100. Nello stadio di profase non si vede alcuna traccia di spirale, tanto nei preparati colorati coll'acetocarmino, quanto in quelli colla reazione di FEULGEN. Tuttavia l'accorciamento è verosimilmente legato a una spiralizzazione.

2. *Metafase I della meiosi* (fig. 11). Le tetradі appaiono come corpi ovoidali, durante la prometafase e la metafase; come anelli, durante

¹ Le misure delle metafasi dei nuclei sono solo indicazioni vaghe delle dimensioni reali, perchè i cromosomi sono troppo piccoli per poter essere misurati con esattezza.

l'anafase, dato che i cromosomi del grillotalpa sono — almeno in gran parte — atelomitici, e, per di più, con attacco mediano in quasi tutte le paia. L'accorciamento è assai forte (circa 83/100), ed è dovuto a una forte spiralizzazione forse doppia; di cui ci si può rendere ragione esaminando gli stadi di diacinesi (fig. 10). I cromatidi sembrano avvolti in spire sottilissime che quasi hanno l'aspetto di pieghettature, oltre a formare poche spire (3—5) di ampiezza maggiore di quelle presente nelle



Fig. 9a. Spermatogonia in riposo. Il nucleolo presso il cromocentro è pallidissimo. Reazione di FEULGEN. (Ingr. circa 1750 volte.)



Fig. 9b. Metafase goniale. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

metafase goniale: lo spessore di questi cromosomi è maggiore di quello dei cromosomi goniali¹.

3. *Cromosomi delle cellule di rivestimento dei follicoli in riposo.* Basterà ora mettere in relazione quanto abbiamo detto circa gli aspetti di questi cromosomi coi diversi stadi che abbiamo preso in esame. In generale (tranne in casi non frequenti, come quello della fig. 5) non si incontrano cromonemi filamentososi: perciò possiamo concludere che, di norma, non si verifica una vera e propria despiralizzazione. Infatti le diverse figure riprodotte (figg. 6, 7) ci presentano poi cromosomi accorciati, che fanno pensare all'esistenza di un avvolgimento a spirale. Questo si vede ancora nella fig. 5, e tracce più o meno evidenti si scorgono non di rado, mai con quella rilas-



Fig. 10. Prometafase di I divisione maturativa della meiosi maschile. Reazione di FEULGEN. (Ingr. circa 1750 volte.)

ciatezza delle spire, caratteristica delle spirali dette residue da DARLINGTON: si può dunque concludere che i cromosomi con accorciamenti del 43:100, 78:100, 83:100 rispetto alla lunghezza del pachitene sono almeno in parte spiralizzati: tuttavia devo riconoscere che le spire non si vedono sempre con chiarezza. E' comunque certo che in questi nuclei, i quali sicuramente sono lontani da fenomeni di riproduzione perchè — come si è detto — i loro cromosomi non mostrano mai spaccature longitudinali e posseggono cromocentri, vi è uno stato di non-distensione

¹ Una analisi della doppia spiralizzazione di questo stadio fu condotta dalla dr. A. MARIANI, ed è ora in corso di stampa (Atti R. Acc. d'Italia).

del cromonema. I cromosomi più accorciati, rappresentati nella fig. 8, meritano un esame particolare, anzitutto perchè costituiscono un esempio comune nelle cellule studiate, poi perchè sono — a mio avviso — i più simili a quelli descritti da GETTLER (1937) nelle cellule somatiche poliploidi di *Gerris lateralis* e altri Rincoti, e da me (1942) nelle cellule «nutricie» dell'utero di *Artemia salina*. Il loro accorciamento (89:100 del pachitene) è il più alto di tutti, e perciò si potrebbe spiegare o mediante una doppia spiralizzazione più contratta (a *packing* più elevato, sec. DARLINGTON e UPOOTT) di quella della I metafase meiotica, o mediante un altro tipo di avvolgimento. È facile escludere la prima eventualità confrontando la fig. 8 colla fig. 3, perchè anche con spirali più stipate, si dovrebbe pure vedere qualche cosa di simile a quello che si nota nella diacinesi. Resta allora da cercare qualche altra spiegazione. L'esame dello stadio dà la sensazione di una massa formata da granuli e, in base a ciò, credo che si possa pensare a una disaggregazione del cromosoma in una massa di cromomeri disordinati, oppure a un raggomitolamento del cromonema in modo tanto complesso da non lasciare traccia visibile del modo con cui si è fatto l'avvolgimento. Io credo che la prima ipotesi non regga, perché urta contro tutte le idee oggi accettate sulla compagine cromosomica; questa infatti deve essere ritenuta un sistema assai stabile, e non facilmente soggetto a disaggregazione. La seconda ipotesi — del raggomitolamento del cromonema — non mi sembra invece urtare contro alcuna esigenza teorica; siccome non mi consta che sia stata già proposta, la presento però con molta riserva. Credo comunque che non sia difficile concepire il passaggio dalla fase con spirali a quella con filamenti raggomitolati: è poi chiaro che con avvolgimenti numerosi e avvicinati, può venire realizzato un accorciamento fortissimo (cfr. fig. 15).

Il secondo punto che mi sono proposto di esaminare è quello del numero dei cromosomi in queste cellule, e per la sua determinazione abbiamo già ricavato qualche elemento dal conteggio dei cromocentri e dei nucleoli. Infatti, siamo già indotti a pensare che le cellule somatiche studiate siano generalmente tetraploidi. Il conteggio dei cromosomi dovrebbe dare un numero pari a 36 (se $2n = 18$), e, infatti, in molti casi ci si avvicina assai a questa cifra. Però la forma indecisa dei cromosomi stessi e la difficoltà a schiacciare bene i nuclei rendono molto incerti i conteggi. Posso dire solo che, in generale, il numero si avvicina a quello che richiederebbe il numero dei cromocentri e dei nucleoli, cioè il tetraploidismo e, raramente, l'octoploidismo: è certo che il numero 18 (diploide) viene superato. In conclusione le cellule con due nucleoli e due cromocentri possono essere ritenute tetraploidi; quelle più rare con 4 nucleoli, altrettanti cromocentri e circa 72 cromosomi, sarebbero octoploidi. Naturalmente non si esclude che vi possano essere anche

cellule eteroploidi (la cui formazione tenteremo di spiegare più avanti), con numeri superiori a 18, ma diversi da 36 e da 72.

d) Mitosi ed endomitosi. Le cellule di rivestimento dei follicoli testicolari sono sede di mitosi e — probabilmente — di endomitosi. Le prime — rarissime — hanno decorso regolare anche in nuclei ritenuti tetraploidi, e sono caratterizzate da un fortissimo accorciamento dei cromosomi, che diventano granuliformi (figg. 11, 12). E' difficile calcolare il loro accorciamento rispetto al pachitene, perché la loro piccolezza è tale che non permette una misura esatta: possiamo però affermare senza tema di cadere in errore che esso supera di gran lunga il valore trovato per la I metafase meiotica.

Per quello che si riferisce all'endomitosi, ritengo che essa deve aver luogo, perché altrimenti non si spiegherebbe la formazione di cellule dotate di caratteri di poliploidismo. Però non sono riuscito a trovare quasi nessuno stadio che possa essere interpretato con certezza come endomitotico.



Fig. 11.

Fig. 11. Polo di telofase precoce in cellula di rivestimento del testicolo (tetraploide?). Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

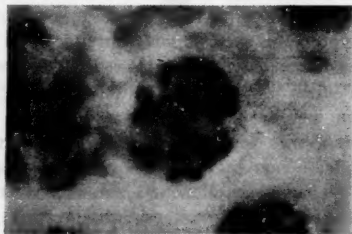


Fig. 12.

Fig. 12. Prometafase di una cellula di rivestimento, poliploide. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

Infatti, tutte le forme che sembrano profasi (accorciamento dei cromosomi con persistenza dei nucleoli) possono proseguire come mitosi normali, e perciò non possono essere prese in considerazione come endoprofasi. Gli stadi che si potrebbero sicuramente interpretare come appartenenti ad una endomitosi, sarebbero: l'endoanafase (con i cromatidi in via di allontanamento e senza nucleoli) e l'endotelofase (con i cromosomi semplici in via di despiralizzazione, entro la membrana nucleare intatta): non ho mai trovato stadi di questo tipo, e perciò inclino a pensare che o le endomitosi sono estremamente rare (e ciò è vero perché in ogni cellula non se ne ha che una, se di regola non si supera lo stadio tetraploide) e rapide; oppure che esse si svolgono senza alcun particolare fenomeno di accorciamento e visibilizzazione dei cromosomi (aumento di cromaticità) e passano perciò inosservate.

E' possibile che ambedue le ipotesi siano parzialmente vere¹.

¹ Non si può imputare il fatto alla mancanza di osservazioni nella stagione adatta, perché i preparati furono eseguiti dalle primavere all'estate, proprio mentre la gonade si sviluppa.

Tuttavia non voglio trascurare di rendere nota qualche osservazione, che io credo potrà essere interessante quando fosse confermata su altro materiale.

In alcuni nuclei (fig. 13) si vedono cromosomi in diverse fasi: alcuni sono sicuramente in riposo, con struttura compatta (nella figura sono quelli a destra); alcuni invece sono in diverse fasi di riproduzione. Nella fig. 13 l'elemento a sinistra sembra in endotelofase, mentre quelli al centro sono sicuramente in endometafase. Casi di questo genere non sono molto rari.

Questa osservazione — che si orienta contro la tesi generalmente accolta della sincronia del ciclo di riproduzione per tutti i cromosomi

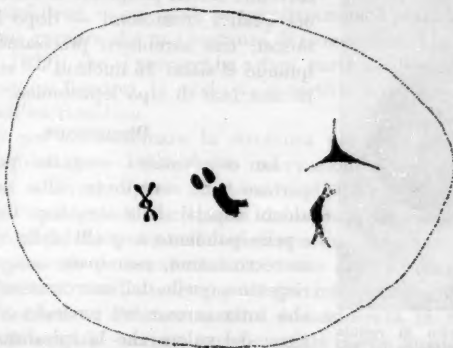


Fig. 13. Nucleo con cromosomi in diversi stadi. A destra, cromosomi in riposo (l'elemento a destra in alto ha un aspetto del tutto irregolare); a sinistra forme endomitotiche. Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 1750 volte.)

di un nucleo — potrebbe corroborare la prospettiva che da cellule ad assetto normale si formino cellule con assetto eteroploide iperploide.

II. Cellule germinali.

Tra le cellule contenute nei follicoli del testicolo (cellule germinali) ho notato talvolta degli elementi con un numero elevato di cromosomi. I casi più salienti si riferiscono a due cellule contenute in un preparato, una delle quali è illustrata nella fig. 14.

Si tratta di elementi forniti di nuclei enormemente grandi, la cui dimensione non poté essere misurata, perché risultarono in preparati eseguiti colla tecnica dello schiacciamento che non lo permette. I nucleoli nel nucleo figurato sono 15: se essi si potessero interpretare come 16, due dei quali fusi in uno solo, si potrebbe pensare a un caso di 32-ploidia, con $18 \times 16 = 288$ cromosomi.

Degna di nota é la struttura dei cromosomi, che sono filamentosi, simili a quelli dello stadio leptotene. La loro lunghezza starebbe a significare mancanza di spiralizzazione, e sotto questo aspetto l'analogia collo stadio leptotene é perfetta. Però, mentra in quello stadio i cromomeri sono visibili e ciò fa pensare ad uno scarso rivestimento di matrice, in questi nuclei giganti i cromomeri non si vedono, e questo induce a credere che essi posseggano uno strato di rivestimento (matrice) capace di far scomparire le variazioni di spessore risultanti dall'alternarsi dei cromomeri ai tratti intercromomerici. Non si nota alcun fatto che indichi una sinapsi o una divisione longitudinale.



Fig. 14. Nucleo di cellula germinale poliploide (si vedono diversi nucleoli). Color. col carminio acetico. (Ingr. circa 550 volte.)

Posso dunque concludere che si possono rinvenire nuclei poliploidi di cellule germinali, nei quali i cromosomi — dopo alcune endomitosi, che sarebbero precisamente quattro, quando ci siano 16 nucleoli — si mantengono in una fase di tipo leptotenico.

Discussione.

Le osservazioni eseguite permettono di portare un contributo alla conoscenza di alcuni aspetti della struttura dei cromosomi, e principalmente a quelli della struttura dell'eterocromatina, esaminata comparativamente rispetto a quella dell'eucromatina; dei rapporti che intercorrono tra nucleolo ed eterocromatina; del valore che la spiralizzazione ha nel produrre l'accorciamento dei cromonemi; e, infine, della struttura dei cromosomi in rapporto al poliploidismo.

a) Eucromatina ed eterocromatina.

Questi due nomi indicano — come é noto — due elementi strutturali del cromosoma, e non corrispondono affatto a specie chimiche. Quel complicato sistema di sostanze, ricco di acido timonucleinico, che si presenta suddiviso in granuli (cromomeri) e prende il nome di cromatina, può apparire in masse compatte durante la mitosi e in filamenti sottili durante il riposo, e allora é detto *eucromatina*; oppure in masse compatte anche durante il riposo nucleare, e allora prende il nome di *eterocromatina*. Questa é la distinzione morfologica comunemente adottata, alla quale si aggiunge anche quella della diversa reattività ai fissatori e ai coloranti (facilità o difficoltà a condensarsi).

La prima caratteristica dell'eterocromatina (stato compatto durante il riposo nucleare) può essere intesa essenzialmente come una mancanza del ciclo di spiralizzazione-despiralizzazione, che sarebbe sostituito da

uno stato di spiralizzazione permanente: infatti, se lo stato compatto va inteso come spiralizzazione, l'eterocromatina sarebbe sempre spiralizzata. Si conoscono casi nei quali ogni cromosoma mantiene isolata la propria porzione eterocromatica (detta anche procromosoma o cromocentro, per es. in *Lactuca*, GETTLER 1938), oppure tutta l'eterocromatina dell'assetto si fonde in un cromocentro unico, come nei nuclei salivari dei Ditteri. Non è detto però che la sola spiralizzazione sia responsabile dello stato compatto caratteristico della eterocromatina; questa anzi — nei grossi cromocentri almeno — non appare affatto spiralizzata. Con l'aspetto particolare dell'eterocromatina (compattezza) si connette la questione della sua reattività particolare rispetto ai fissatori e ai coloranti: infatti essa risulta singolarmente „condensata“ anche in quello stadio — il pachitene — nel quale la spiralizzazione è praticamente nulla. Si può dunque pensare che una sostanza di riempimento (*Ballastsubstanz*, di GETTLER 1939), che si troverebbe a fare parte dell'eterocromatina, si rigonfi di fronte ai fissatori, in modo da impartirle un aspetto ben diverso da quello dell'eucromatina.

Passando poi ad esaminare la struttura più minuta dell'eterocromatina, parrebbe che — secondo le osservazioni di BAUER (1936) sui nuclei salivari di diverse specie di Chironomidi — essa sia costituita di „eterocromeri“ più grandi e irregolari dei cromomeri eucromatici. CASPERSSON infine (1941) trova nell'eterocromatina acido pentosonucleico, che sarebbe presente pure nel nucleolo e non nell'eucromatina.

Le due forme di cromatina vengono poi interpretate geneticamente in maniera antitetica; l'eterocromatina è considerata in molte specie — per es. in *Drosophila* — come geneticamente inerte, mentre il genoma sarebbe distribuito solo nell'eucromatina. Questa distinzione però non ha un valore generale, perché, per es. in *Sphaerocarpus* (KNAPP 1935), l'eterocromatina possiede anche un significato genetico. È importante tenere presente poi che fra eterocromatina ed eucromatina esistono delle forme intermedie, e che cioè non è sempre facile differenziarle. Inoltre si sa che vi sono diversi momenti dello sviluppo nei quali le zone eterocromatiche ed eucromatiche hanno caratteri diversi, e che non vi è corrispondenza fra le porzioni eterocromatiche nei due sessi degli Ortotteri, dove pure diverse parti eterocromatiche appartenenti agli autosomi si comportano diversamente dal cromosoma X, che è pure eterocromatico (COREY 1933). DARLINGTON e LA COUR hanno poi recentemente (osservato 1941) che nei generi *Fritillaria*, *Paris* e *Trillium* vi sono delle zone eterocromatiche che seguono il ciclo dell'eucromatina (secondo l'espressione degli Autori: non sono allocicliche). Anche gli eterocromomeri e gli eucromomeri di BAUER (gh. salivari di Chironomidi) presenterebbero delle forme con aspetto intermedio. Credo inoltre che lo stesso carattere distintivo basato sulla mancanza di despiralizzazione durante il riposo nucleare venga a perdere molta importanza

nei Rincoti studiati da GEITLER, quando questo A. (1939) è costretto ad ammettere che anche le parti euromatiche hanno una scarsa tendenza a despiralizzarsi e a perdere la matrice alla fine della mitosi. In conclusione, l'eterocromatina e l'eucomatina tipiche sono collegate da stati di transizione.

Queste brevi premesse generali concedono di discutere le osservazioni compiute sui cromocentri e le porzioni non cromocentriche (che hanno praticamente l'assoluta prevalenza) dell'assetto cromosomico delle cellule di rivestimento dei follicoli testicolari del *Gryllotalpa*.

In questo Ortottero l'eterocromatina costituisce una massa cromocentrica compatta: dunque si comporta in modo paragonabile a quello descritto in molti altri casi, per es. nei Ditteri, anche perché nel cromocentro non appare spiralizzazione alcuna. L'eucomatina invece si presenta quasi del tutto spiralizzata o compatta, anche nello stadio di riposo, *sebbene meno intensamente dell'eterocromatina, e non presenta tendenza a fondersi in masse*. Devo dunque riconoscere che le caratteristiche dell'eterocromatina delle cellule di cui mi sono occupato corrispondono a quelle generalmente riconosciute; invece l'eucomatina si comporta in modo peculiare, che è simile a quello descritto da GEITLER nelle cellule dei Rincoti.

Si può concludere che le mie ricerche — insieme a quelle di GEITLER — inducono a riconoscere all'eterocromatina la facoltà di non perdere assolutamente la compattezza nel riposo, e all'eucomatina quella di perderla meno. Nel caso di *Gryllotalpa*, l'antitesi vera e propria tra le due cromatine consiste nel fatto che, mentre porzioni di eterocromatina si fondono in un cromocentro compatto, le parti euromatiche mantengono la loro individualità. Tra il comportamento descritto nei Rincoti e quello di queste cellule del *Gryllotalpa* vi è ancora una differenza: l'accorciamento dei cromosomi (che possiamo considerare in blocco come euromatici) durante la profase è fortissimo, perché le forme più piccole di cromosomi metafasici le abbiamo appunto trovate nelle mitosi osservate nelle cellule di rivestimento del testicolo. Non si può dunque affermare — come GEITLER ha potuto fare per i Rincoti — che i cromosomi somatici studiati nel *Gryllotalpa* non si trasformano quasi affatto passando dalla mitosi al riposo. Potremo dire che essi durante il riposo si allungano quasi sempre molto meno, per es., di quelli delle cellule germinali, nel riposo delle quali essi assumono l'aspetto di filamenti sinuosi; e, del pari, potremo asserire che il dissolvimento della matrice non è generalmente completo durante il riposo.

Un'ultima circostanza non priva di interesse è questa: abbiamo notato che la struttura dei nuclei non è sempre la stessa, e cioè che i cromosomi possono talvolta apparire perfino filamentosi. Questi diversi aspetti sono senza dubbio prodotti da una diversa condizione di quei

fattori che realizzano l'accorciamento dei cromosomi, tra i quali primeggia la spiralizzazione. Però, di solito, queste osservazioni hanno luogo durante il ciclo mitotico, mentre, nel caso nostro, i diversi stati del nucleo non hanno nulla a che fare colla riproduzione nucleare, tanto è vero che i cromocentri non cambiano di aspetto. Infatti, siccome questi non corrispondono a cromosomi interi ma a parti di cromosomi diversi fuse assieme, ogni fenomeno, tanto di mitosi quanto di endomitosi, porterebbe fatalmente con sé la dissoluzione dei cromocentri. Si deve concludere allora che (nelle cellule studiate) i cromosomi possono cambiare forma, indipendentemente da fatti di divisione.

Fenomeni di questo genere — per quanto so — non sono stati ancora esaminati con criteri citologici moderni su altro materiale; ma credo che la conoscenza più profonda non solo delle modificazioni di forma dei cromosomi in riposo, ma anche quella delle loro cause, potrebbe gettare non poca luce sul meccanismo dell'accorciamento dei cromosomi durante la mitosi.

Nota: Nell'esame della questione dell'eterocromatina non fu tenuto conto della distinzione fatta un tempo da HEITZ (1934) tra eterocromatina α e β : oggi infatti tale distinzione non sembra più accettata (GETTLER 1938).

b) Eterocromatina e nucleolo.

E' noto che il nucleolo si forma sotto il controllo di determinate parti dell'assetto cromosomico, e precisamente delle strozzature secondarie, le quali sono generalmente non cromatiche: le zone SAT. Nei più recenti trattati di Citologia (DARLINGTON 1937, GETTLER 1938) non si accenna però a particolari rapporti tra eterocromatina, eucromatina e nucleoli, specialmente durante il riposo nucleare, cioè lontano dal momento nel quale i nucleoli si formano (telofase).

CASPERSSON (1941) trova però che eterocromatina e nucleoli contengono in abbondanza proteine del tipo degli istoni, che sono invece scarse nell'eucromatina dove sono sostituite da globuline, e suppone una relazione funzionale tra le due strutture e una derivazione del nucleolo dall'eterocromatina. WOLFF (1941) osserva una associazione (o almeno una vicinanza) tra nucleolo e cromocentro nei nuclei di cellule germinali di alcuni Ditteri Nematoceri (*Penthetria*).

Specialmente tenendo conto dell'osservazione e delle vedute di CASPERSSON, è interessante prendere in considerazione la costante associazione tra nucleolo e cromocentro nelle cellule di *Gryllotalpa* di cui ci occupiamo. Questa associazione rappresenterebbe l'accostamento tra strutture tra loro simili nelle sostanze chimiche di cui constano, e probabilmente legate tra loro da relazioni funzionali.

c) Accorciamento e spiralizzazione.

La mitosi — considerata come fenomeno cromosomico — consta di un accorciamento dei cromosomi e di un allontanamento dei cromatidi. L'accorciamento dei cromosomi — che qui solo ci interessa — è interpretato essenzialmente come dovuto a spiralizzazione dei cromonemi, onde la nota definizione del ciclo di divisione dei cromosomi come costituito da una spiralizzazione e una despiralizzazione del cromonema.

Generalmente le osservazioni fatte sulla lunghezza dei cromosomi sono state condotte allo scopo di determinare se la spiralizzazione sia il solo fattore responsabile dell'accorciamento durante la mitosi e la meiosi: le conclusioni raggiunte dal maggior numero degli Autori (PÄTAU 1937, DARLINGTON e UPCOTT, con dati raccolti da molti ricercatori, 1939) conducono ad ammettere che la spiralizzazione possa da sola spiegare praticamente tutti gli accorciamenti, tanto che DARLINGTON e UPCOTT chiamano coefficiente di spiralizzazione il rapporto della lunghezza fra lo stadio a cromosomi più lunghi e quello a cromosomi più corti. Recentemente RESENDE (1940) afferma invece che la sola spiralizzazione non basta a spiegare gli accorciamenti cromosomici in diverse specie di Pianta (*Encephalartus*, *Trillium* ecc.). Tutte queste osservazioni si riferiscono però al problema seguente: determinare se il cromonema mantiene la stessa lunghezza durante il ciclo mitotico e meiotico di un dato tipo di cellule.

Il problema che affronto in questa ricerca è invece un altro, e cioè: determinare se il cromonema mantiene la stessa lunghezza in diversi tipi di cellule.

La questione si è affacciata per la prima volta a proposito dei cromosomi salivari dei Ditteri, e DARLINGTON e UPCOTT (1939) concludono che, essendo il cromonema pachitene lungo 20—30 volte meno del cromonema salivare, bisogna pensare che un processo di denaturazione delle proteine abbia allungato la distanza fra i singoli cromomeri elementari, aumentando così la lunghezza di tutto il filamento. Secondo questa veduta, i cromomeri del pachitene sarebbero gruppi di cromomeri elementari, distanziati gli uni dagli altri nel cromonema salivare.

Che, in altri casi, nei cromonemi somatici possano verificarsi fenomeni analoghi o diversi rispetto a quelli, più studiati, della linea germinale, non mi consta, tranne che da quanto nota rapidamente GETTLER (1938). Questo Autore riconosce che nei cromonemi somatici si vedono dei grossi cromomeri, che chiama *Sammelchromomeren*, ossia cromomeri composti o derivati da unione di cromomeri semplici, i quali sono notevolmente più grandi di quelli dello stadio pachitene, che viene preso come termine di paragone. Egli esita ad addurre una spiegazione della loro origine, e si limita a prospettare l'insufficienza della sola spiralizzazione a dare ragione del fenomeno, mentre pensa più probabile una vera associazione fra i cromomeri che vengono a trovarsi in spire vicine.

Comunque, nè da GETTLER nè da altri Autori a me noti viene formulato il problema: se la lunghezza dei vari cromonemi che compongono un assetto specifico si debba considerare costante o variabile (e in che misura) in diversi tipi di cellule. Naturalmente, a prescindere dai cromosomi di tipo salivare dei Ditteri.

Vediamo ora di discutere le osservazioni compiute sulle cellule di rivestimento del testicolo di *grillotalpa*, in relazione a questo problema.

La tabella della pag. 353 comprende una serie di misure del coefficiente di spiralizzazione e dell'accorciamento di stadi della meiosi e dei nuclei somatici considerati.

Il coefficiente di spiralizzazione ha il significato datogli da DARLINGTON e UPOOTT *solo quando si riferisce a stadi tra loro confrontabili*, cioè a cellule dello stesso tipo di tessuto. Esteso a cromosomi di cellule istologicamente diverse, esso non ha più valore, perchè non sappiamo se l'accorciamento di stadi diversi è solo dovuto a spiralizzazione. Però, prendendo in esame insieme la lunghezza e la struttura dei diversi stadi, possiamo ricavare un'idea del significato che la spiralizzazione ha nel fare assumere a questi cromosomi le loro lunghezze caratteristiche.

Siccome i cromosomi molto corti della I metafase meiotica hanno una forte e forse doppia spiralizzazione, e quelli somatici (fig. 5) ne hanno probabilmente solo una semplice e irregolare, e, d'altra parte, questi sono anche più corti dei primi, è verosimile ritenere che i cromonemi di questi cromosomi (che in pratica non si osservano mai filamentosi) siano più corti dei cromonemi della linea germinale. Anche la notevole piccolezza dei cromosomi metafasici delle poche mitosi somatiche osservate, depone nello stesso senso.

Questa conclusione viene desunta naturalmente da quegli stadi che non si presentano in forma di nubecola (illustrati nella fig. 8), per i quali abbiamo supposto una struttura del cromonema non spiralata, ma raggomitolata, che non è possibile confrontare cogli stadi spiralizzati.

Se si dovesse dimostrare in base ad ulteriori ricerche, che i cromonemi possono essere diversamente lunghi in diverse tipi di cellule, si aprirà il problema di vedere se esiste una correlazione fra lunghezza dei cromonemi e dimensione nucleare, e se cioè le cellule più piccole o con nuclei più piccoli contengono di regola cromonemi più corti.

Fin d'ora possiamo prospettare quali siano gli elementi che possono fare variare la lunghezza dei cromonemi. Credo che i cromomeri elementari debbano essere considerati gli elementi strutturali più stabili, e che invece notevolmente variabili possano essere i tratti intercromomerici. La sostanza di rivestimento del cromomero (al cui centro sta il gene, che consideriamo di mole fissa) possono anche essere più o meno abbondanti e rendere più o meno grandi i cromomeri stessi. Quale possa essere poi la causa delle variazioni di distanza fra i cromomeri e di grandezza dei cromomeri, non saprei indicare se non in forma assai

incompleta e ipotetica. Maggiore o minore quantità di acqua, denaturazione di proteine (DARLINGTON e UPCOTT), maggiore o minore quantità di acido timonucleinico, possono essere importanti fattori di variazione.

Quando si potrà disporre di una serie di dati sulla variazione di lunghezza dei cromonemi nei diversi tipi di cellule, si potrà anche affrontare un importante problema. Recentemente, GOLDSCHMIDT (1938) ha ripreso sotto una forma nuova un concetto già espresso da Autori precedenti, secondo il quale il gene debba essere considerato come facente parte di una unità superiore (il cromonema o parti di esso), in modo che, anziché essere un corpuscolo indipendente, non sarebbe se non una parte di una

struttura molto più grande e complessa. Se questo modo di considerare le cose corrisponda alle attuali conoscenze dimostrate sperimentalmente, è dubbio, specialmente se si tiene conto dei risultati della radiogenetica (TIMOFÉEFF-RESSOWSKY 1937). Però credo che sia necessario raccogliere altri elementi per chiarire questo problema di portata assolutamente generale.

Se si considera l'intero cromosoma come una unità (composta a sua volta di unità genetiche intimamente connesse fra loro)

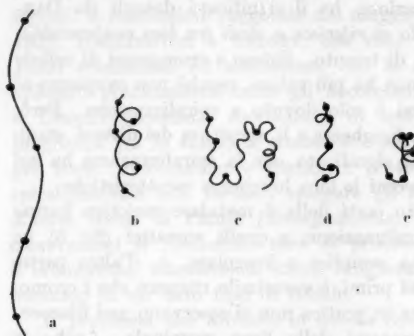


Fig. 15 a—e. Schemi delle strutture cromosomiche studiate: a pachitene, b cromosoma metafase goniale, c cr. meiotico I divisione, d cromosoma delle cellule di rivestimento del testicolo in riposo in forma contratta comune (cromonemi a spirali irregolari), e id. in forma diffusa (cromonemi a gomito). I primi tre schemi sono sulla base di un cromonema di uguale lunghezza: gli altri due invece hanno il cromonema più breve.

si dovrebbe arrivare a concepire il cromonema come un qualche cosa di assai stabile, anche nelle dimensioni; infatti, secondo questo modo di vedere, la catena dei cromomeri dovrebbe costituire un tutto unico. Invece, se i punti geneticamente importanti sono solo i cromomeri come sede dei *loci* genici, i tratti fra cromomero e cromomero perdono di significato e possono essere pensati come formazioni variabili. In questo senso credo che una conoscenza sistematica delle variazioni di lunghezza dei cromonemi nell'organismo potrà contribuire alla soluzione del problema.

d) Poliploidismo somatico e germinale.

L'osservazione di elementi altamente poliploidi per le cellule germinali, caratterizzati da cromosomi despiralizzati, simili a quelli pachiteni, ma senza sinapsi, mi permette di discutere ancora un problema: se l'aspetto dei cromosomi (forma, dimensione) sia determinato dal loro

numero, o, in altre parole, se il fatto che le cellule diventino poliploidi fa acquistare ai cromosomi di quelle cellule, caratteristiche tipiche per tutte.

La formulazione di questo problema credo sia legittima, in quanto che le cellule poliploidi diventano generalmente o incapaci di dividersi, o poco tendenti alla mitosi, e questo fatto potrebbe — si può supporre — portare con sé una particolare organizzazione dei cromonemi (specialmente uno speciale grado di spiralizzazione) che si dovrebbe ritrovare in tutte le cellule poliploidi di una data specie. Questa idea può venire suggerita dal fatto che nel *grillotalpa* le cellule germinali diploidi hanno cromosomi despiralizzati nel modo solito durante il riposo nucleare, mentre quelle poliploidi li hanno quasi sempre contratti. L'esistenza di cellule germinali poliploidi con nuclei a cromonemi despiralizzati e di cellule somatiche poliploidi con cromonemi contratti permette di escludere una relazione tra numero e struttura dei cromosomi. Invece sembra rafforzato il concetto, che già espressi nelle mie ricerche su *Artemia salina* (1942), nelle quali concludevo che a molte differenziazioni istologiche corrisponde un tipico aspetto dei cromosomi in riposo o in endomitosi.

Conclusioni generali.

1. Nel rivestimento dei follicoli testicolari di *Gryllotalpa gryllotalpa* L. (forma con 18 cromosomi vivente nella pianura lombarda fra Pavia e Milano) si riscontrano cellule (il cui numero cromosomico non è direttamente rilevabile, ma sembra essere generalmente 36, o, più raramente, 72), che, nel riposo nucleare, sono simili a quelli delle cellule somatiche dei Rincoti.

2. Nell'assetto cromosomico di questi nuclei poliploidi si distingue una parte eucromatica e qualche porzione eterocromatica. La struttura dei cromosomi — studiata mediante il confronto con stadi della mitosi e della meiosi — permette di riconoscere una massima compattezza all'eterocromatina, e all'eucromatina una spiralizzazione più o meno regolare o un raggomitolamento che persiste, almeno in parte, nel riposo.

3. Nelle cellule germinali maschili si osservano pure elementi poliploidi, con cromosomi despiralizzati, totalmente diversi da quelli delle cellule di rivestimento del testicolo.

Zusammenfassung.

1. In den Follikelhüllen des Hodens von *Gryllotalpa gryllotalpa* L. (einer Rasse mit diploid 18 Chromosomen, die in der Lombardischen Tiefebene zwischen Pavia und Mailand vorkommt) finden sich Zellen, deren Chromosomenzahl, wenn sie auch nicht unmittelbar zu bestimmen ist, im allgemeinen 36, seltener 72 zu betragen scheint und die in der Interphase denen der gleichen Phase bei den Heteropteren ähneln.

2. Im Chromosomenbestand dieser polyploiden Kerne läßt sich der euchromatische Anteil von dem aus mehreren Körpern bestehenden Heterochromatinanteil unterscheiden. Die Struktur der Chromosomen dieser Kerne wurde mit der der Mitose und Meiose verglichen. Es zeigt sich dabei, daß das Heterochromatin stark verdichtet bleibt und daß das Euchromatin eine unregelmäßige Spiralisierung aufweist, die wenigstens zum Teil im Ruhestadium erhalten bleibt.

3. Auch unter den männlichen Keimzellen treten polyploide Zellen auf, die aber entspiralisierte Chromosomen enthalten, die von denen der Follikelhüllen gänzlich verschieden sind.

Lavori citati.

- Barigozzi, C.: Z. Zellforsch. 18, 626 (1933). — Chromosoma 2, 251 (1942). —
 Bauer, H.: Zool. Jb., Physiol. 56, 239 (1936). — Caspersson, T.: Naturwiss. 29, 33 (1941). — Conte, V.: Boll. Zool. Gen. Agr. Portici 21, 275 (1928). — Corey, H. J.: J. Morph. a. Physiol. 55, 313—347 (1933) (citato da Geitler 1938). — Darlington, C. D.: Recent advances in Cytology. London: Churchill 1937. — Darlington, C. D. and L. La Cour: J. Hered. 32, 115 (1941). — Darlington, C. D. and M. B. Upcott: Chromosoma 1, 23 (1939). — Geitler, L.: Ber. dtsch. bot. Ges. 53, 270 (1935). — Z. Zellforsch. 26, 641 (1937). — Chromosomenbau. Berlin: Gebrüder Bornträger 1938. — Chromosoma 1, 1, 197 (1939). — Erg. Biol. 18, 1 (1941). — Goldschmidt, R.: Physiological Genetics. New York u. London: McGraw-Hill 1938. — Heitz, E.: Biol. Zbl. 54, 538 (1934). — Knapp, E.: Ber. dtsch. bot. Ges. 53, 751 (1935). — Kuwada, Y.: Cytologia 10, 213 (1939). — Manton, I.: Proc. roy. Soc. Lond. B 118, 522 (1935). — Patau, K.: Cytologia Fujii Jub. 1937, 667. — Resende, F.: Chromosoma 1, 486 (1940). — Straub, J.: Z. Bot. 33, 65 (1939). — Timofëeff-Ressowsky, N. W.: Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1937. — Tinney, F. W.: Ann. J. Bot. 22, 543 (1935). — Wintharper, H.: Arch. Biol. 37, 515 (1927). — Wolff, E.: Chromosoma 2, 192 (1941).

(Aus dem Institut für Vererbungsforschung, Svalöv, Schweden.)

MEIOSIS UND MITOSIS.

EINE ERKLÄRUNG DER MEIOTISCHEN ERSCHEINUNGEN BEI *HIERACIUM*.

Von

ÅKE GUSTAFSSON.

Mit 3 Textabbildungen (12 Einzelbildern).

(Eingegangen am 3. Juli 1942.)

Die besondere Art der Kernteilung, die wir Reduktionsteilung oder Meiosis nennen, senkt die Chromosomenzahl auf die Hälfte und wird dadurch zur Voraussetzung jeder geschlechtlichen Fortpflanzung. Die karyologische Forschung hat versucht das Meiosisproblem von verschiedenen Ausgangspunkten klarzulegen, aber wir wissen noch immer äußerst wenig über die zum Eintritt der Meiosis führenden Impulse und sogar über die Erscheinungen, die den Unterschied zwischen Meiosis und Mitosis bedingen. DARLINGTON (1932) hat mit FARMER und MOORE (1905) den Unterschied so formuliert, daß die Meiosis eine doppelte Teilung von Zelle und Kern mit sich bringt, während die Chromosomen nur einmal geteilt werden. Aber diese Umschreibung der Tatsachen führt uns der Lösung des Problems auch nicht näher.

Eine wirklich zusammenfassende Übersicht der verschiedenen Untersuchungen über die Struktur der Meiosis ist noch kaum veröffentlicht worden (s. jedoch STRAUB 1938 und KUWADA 1940). Die vorliegende Arbeit macht auch keinen Anspruch darauf diese Lücke zu füllen. Sie versucht nur, ausgehend von den eigentümlichen Meiosisstörungen bei *Hieracium*, verschiedene morphologische, physiologische und experimentelle Erscheinungen zu erklären.

Der Unterschied zwischen den Meiosis- und Mitosis-chromosomen.

DARLINGTONS Precocitytheorie legt der hypothetischen Erscheinung große Bedeutung bei, daß die Meiosischromosomen in der frühen Prophase (Leptotän-Pachytän) einfache Bildungen sind, d. h. daß jedes Chromosom nur aus einem einzigen Chromonemafaden bestehen sollte. Dies wird von den meisten Zytologen verneint. NEBEL (1939 und früher) ist sogar der Ansicht, daß das Leptotänchromosom nicht nur doppelt ist, so daß es aus zwei Chromonemata bestünde, sondern daß es deren vier enthält. Die tatsächlichen Verhältnisse sind noch ungeklärt; soviel ist indessen sicher, daß auch Forscher, die sich der Mehrfadenauffassung angeschlossen haben, betonen, daß die Chromosomen im späten Leptotänstadium auch in jenen Fällen einfach erscheinen, in denen sie im Präleptotän doppelt zutage treten (McCLUNG 1927, HUSKINS und SMITH 1934, KUWADA 1940). Wir

können also sagen, daß die Meiosischromosomen, auch wenn sie in früher Prophase doppelt oder vierfach sind, sich doch so benehmen als wenn sie einfach wären.

In entsprechendem Grade ist auch die Auffassung von der einfachen Struktur der Chromosomen in der mitotischen Anaphase bestritten worden. Eine Übersicht über diese alte Streitfrage gibt TISCHLER (1942, S. 186). Röntgenversuche haben gezeigt, daß das Interphasechromosom sich so *benimmt* als wäre es einfach, während das Prophasechromosom als doppelte Einheit fungiert (MATHER und STONE, GUSTAFSSON, MARQUARDT). Im Pollenkorn erfolgt diese physiologische Verdoppelung im Verlauf der Interphase, entweder zu Beginn, in der Mitte oder am Ende derselben (RILEY, MATHER, SAX, MARQUARDT).

Einen Beweis für die *physiologisch* einfache Struktur der Interphasenchromosomen haben GENTSCHKEFF und GUSTAFSSON (1939) erbracht. Periblemzellen der Wurzeln von *Spinacia* zeigen eine erhöhte Chromosomenzahl mit geraden Vielfachen der somatischen Zahl (12, 24, 48, 96). Die tetraploiden und oktoploiden Metaphasen enthalten entweder 12 bzw. 24 Paar Chromosomen oder auch 24 bzw. 48 Einzelchromosomen, die wie bei einer gewöhnlichen Kernteilung ohne Paarung getrennt liegen. Im ersten Fall hat eine wiederholte Chromosomenteilung, eine „doppelte Reproduktion“ stattgefunden, im letzteren Fall hat seit der doppelten Reproduktion wenigstens eine Zellteilung stattgefunden. Nach Röntgenbestrahlung trockener Samen entstehen in den Metaphasen mit zerstreuten Chromosomen, gleichgültig ob ihre Anzahl nun 12, 24 oder 48 beträgt, normale Chromosomenfragmente, die aus zwei gleichgroßen Chromatidstücken bestehen. Metaphasen mit *Paaren* von Chromosomen enthalten dagegen *Paare* von Chromosomenfragmenten, d. h. vier gleich große Chromatidstücke. Dies ist entweder so zu deuten, daß die Chromosomen im Zeitpunkt der Bestrahlung einfach sind und sich zu Beginn der Prophase in gewissen Fällen einmal, in anderen Fällen zweimal (die „doppelte Reproduktion“) teilen, oder auch es hat die doppelte Reproduktion tatsächlich vor der Bestrahlung stattgefunden, und solchenfalls verhalten sich auch diese endomitotischen Chromosomen wie physiologische Einheiten. Die erste Alternative erscheint mir aus mehreren Gründen die wahrscheinlichere. Weshalb erhöht sich im anderen Fall niemals die Chromosomenzahl durch Entomitosis auf mehr als das Doppelte der für die in Rede stehende Interphase charakteristische, so daß Gruppen von vier oder acht gepaarten Chromosomen entstehen? Auch aus rein physiologischen Gründen erscheint mir BERGERS Ansicht (1941), daß die Endomitosis im Ruhestadium des Samens stattfindet, wenig wahrscheinlich. Ein getrockneter Samen bietet kaum geeignete Bedingungen für irgend eine Reproduktion. Solchenfalls sollte die doppelte Reproduktion eher schon während der vorhergehenden Anaphase bis Telophase oder während der beginnenden Interphase stattgefunden

haben. Der physiologische Gegensatz zwischen getrockneten *Spinacia*-Samen und den gut geschützten exkretorischen Geweben von *Gerris*, wo GEITLER (1938) das Vorkommen von Endomitosen im Ruhestadium nachgewiesen hat, ist sehr zu beachten.

Die gegenseitige Empfindlichkeit der Mitosis- und Meiosischromosomen gegenüber Röntgenstrahlen ist verschieden. Schon 1935 zeigte MARSHAK, daß in der Meiosis das Pachytänstadium am stärksten mit Störungen reagiert, eine Erscheinung, die 1938 und 1939 durch die eingehenden Untersuchungen von SAX und MARSHAK bestätigt worden sein dürfte. Seit langem ist bekannt, daß das empfindlichste Mitosisstadium die frühe Prophase ist. MARSHAK wies 1937 nach, daß die höchste Störungsfrequenz bei der Bestrahlung von sehr frühen Prophasen erreicht wird. Andererseits konnten GUSTAFSSON (1937) und GELIN (1941) zeigen, daß die Interphasenkerne, die am frühesten in die Prophase eingehen, bedeutend empfindlicher sind als die große Masse der Zellen, die ihre Teilung erst später beginnen.

Das Wichtigste in diesen Befunden ist, daß die hohe Empfindlichkeit für die Bestrahlung erst mit dem Zeitpunkt zusammenfällt, in dem die Chromosomen von dem anscheinend einfachen in den anscheinend doppelten Zustand übergehen. Diese Übereinstimmung kann wohl kaum auf etwas anderem als auf einem durchgreifenden Strukturwechsel in den Chromosomen selbst beruhen. Für die Variante von mitotischen Strukturen, die die Pollenkörner bilden, tritt die physiologische Veränderung von einfachen zu doppelten Fäden früher, irgendwo während der Interphase selbst, ein. Die Daten von SAX (1938, Tabelle 3) zeigen, daß die Störungsfrequenz trotz dieser Verschiebung gerade in dem Stadium am höchsten wird, in dem die Verdoppelung der Chromosomen stattzufinden scheint.

Der vorstehende Bericht ist keineswegs vollständig. Einwände sind gegen die allgemeine Gültigkeit gemacht worden, daß nach der Bestrahlung von Interphasechromosomen nur Chromosomenfragmente entstehen. NEBEL (1937) und MARSHAK (1939a) beschreiben den Fund von Fragmentstücken, die Chromatiden- oder Halbchromatidenstücken entsprechen. Hierbei ist jedoch, wie GUSTAFSSON 1937 hervorgehoben hat, zu beachten, daß es namentlich bei hohen Bestrahlungsdosen gewisse Grenzfälle gibt, in denen ein Interphasechromosom an mehreren Punkten seiner Länge getroffen und beschädigt wird. Die Schäden können mitunter so intensiv sein, daß die darauf folgende Teilung in zwei Fäden unregelmäßig verläuft; die Reproduktion kann beispielsweise für das eine Chromatid normal, für das andere gestört sein. In dieser Weise kann die Entstehung einzelner Chromatidenfragmente nebst Chromosomenfragmenten erklärt werden. Desgleichen ist hervorgehoben worden, daß Prophasechromosomen trotz ihrer doppelten Struktur zuweilen Chromosomenfragmente geben, die aus gleich großen Chromatidstücken bestehen, d. h. die doppelten Fragmente sind laut der Ein-Treffer-Hypothese durch

einen einzigen Treffer verursacht worden. Das Wesentliche ist indessen nicht die Ausnahme sondern die Regel. Die Befunde von SAX über das Vorkommen von Chromatiden- bzw. Chromosomenbrücken in der Pollenmitosis sprechen übrigens des weiteren für die Richtigkeit des physiologisch einfachen Baues der frühen Interphasechromosomen.

Wir gelangen also zu dem Schlußsatz, daß die Interphasechromosomen in der Mitosis und vor der Meiosis meistens als einfache Einheiten fungieren, wenn sie auch im Mikroskop doppelt erscheinen oder als doppelt nachgewiesen werden können. Dasselbe gilt für die Leptotän- und Zygotänchromosomen. Die Aufteilung in zwei Chromatiden fällt zeitlich mit einer starken Empfindlichkeit für die Bestrahlung zusammen. In der Mitosis besteht ein deutlicher Gegensatz zwischen Interphase- und Prophasekerne, was sich unter anderem in POLITZERS Feststellung der mitosisfreien Zwischenperiode widerspiegelt (1934 und früher). Bei den Pollenkörnern wird der Zeitpunkt für die physiologische Reproduktion nach einem früheren Stadium verschoben und gleichzeitig hiermit wird die Bestrahlungsempfindlichkeit verändert; außerdem verschwindet — vielleicht als eine Folge — die mitosefreie Zwischenperiode.

CASPERSSON (1940b) macht es auf indirektem Weg wahrscheinlich, daß die Reproduktion der reproduktionsaktiven Zellelemente im Zusammenhang mit dem Vorkommen von Nukleotiden steht¹. Man könnte da vielleicht vermuten, daß die Reproduktion der Chromosomen in jenem Zeitpunkt stattfinden sollte, wo die Nukleinsäuresynthese am intensivsten ist, d. h. während der Prophase und Metaphase. Da indessen die stärkste Eiweißsynthese während der Telophase und Interphase stattfindet, es mag sich hierbei um Eiweiß vom Globulin- oder Histontypus handeln, und das Gerippe der Chromosomen tatsächlich aus mehr oder weniger komplizierten Polypeptiden aufgebaut ist, dürfte es — wie dies CASPERSSON tut — berechtigt sein anzunehmen, daß die Nukleinsäuresynthese eine Voraussetzung für die *Eiweißbildung* ist. Die Bildung von Eiweiß in Telo- und Interphase ist dann vielleicht ihrerseits eine Voraussetzung für die Reproduktion.

Das vertiefte Studium der Meiosisprophase, das von BELLING, DARLINGTON und NEWTON begonnen und später von GEITLER, HUSKINS, KUWADA, MATSUURA, NEBEL, SAX u. a. betrieben worden ist, hat gezeigt, daß die Chromosomen — abgesehen von der Chromonemaanzahl — in der Meiosis und Mitosis ganz verschieden sind. Hier können die Studien DARLINGTONS von 1935 der Erörterung zugrunde gelegt werden. Die für die Mitosis charakteristischen Restspiralen werden in der frühen Prophase nicht aufgelöst sondern bleiben oft bis in die späte Prophase oder frühe Metaphase bestehen, auch wenn sie an Anzahl abnehmen und beträchtlich ausgeglichen werden. In der meiotischen Prophase verschwinden

¹ Nach CASPERSSON und SCHULTZ (1938) gilt dasselbe für den Virus und Bakteriophagen.

sie indessen ganz, bevor die neue Spiralisierung einsetzt. Infolgedessen werden die Zygotän- und Pachytänchromosomen bedeutend länger als in irgendeiner anderen Phase der Meiosis. Natürlich bildet diese Entspiralisierung ein vorzügliches Mittel um eine intime Paarung zu erreichen; sie ist also eine Voraussetzung für die regelmäßige Bildung von Chiasmen und Bivalenten.

Die neuen Spiralen, die im Verlauf der Prophase entstehen, sind in den zwei Kernteilungstypen ganz verschieden. In der Mitosis sind die Spiralen zahlreich und ihr Durchmesser ist unansehnlich; in der Meiosis gibt es ihrer wenige aber die haben um so größeren Durchmesser. Die Abnahme der Chromosomenlänge von der Prophase zur Metaphase beruht laut den meisten Karyologen hauptsächlich auf der Spiralisierung. Trotzdem ist es nicht unmöglich, daß auch eine aktive Verkürzung eintritt (vgl. aber die Auffassung von HUSKINS et al. 1938). CASPERSSON (1940a) hat mit den Speicheldrüsenchromosomen als Modell gezeigt, daß im Interphasenkern eine intensive Synthese von unter anderem Globulinen stattfindet. Diese hochmolekularen Eiweißstoffe werden in den Speicheldrüsenchromosomen zu beiden Seiten der Nukleoproteidbänder abgelagert, so daß die achromatische nukleinsäurefreie Substanz zwischen den Bändern hauptsächlich akzessorisch ist. Der Abbau der euchromatischen Globulinen und der heterochromatischen Histone erfolgt während der Prophase und Metaphase. Ist CASPERSSONs Ansicht richtig, so kann eine Abnahme der Chromosomenlänge auch als Folge dieses Eiweißabbaues zustande kommen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß noch die Leptotänchromosomen laut CASPERSSON reichlich Eiweiß vom Globulintypus enthalten. Ob eine Eiweißsynthese in der Meiosis bis zum Pachytänstadium fortsetzt (man beachte, daß die maximale Chromosomenlänge in gewissen Fällen erst in spätem Pachytän erreicht wird) oder ob das Leptotäneiweiß nur ein Rest des in der Interphase synthetisierten ist, wissen wir nicht.

DARLINGTON hat die Meiosis- und Mitosis spiralen als Major- bzw. Minorspiralen bezeichnet. Laut KUWADA und Mitarbeiter enthalten die Major-Spiralen in der Meiosis auch Minorspiralen, eine Auffassung, die DARLINGTON und NEBEL akzeptiert, HUSKINS dagegen abgelehnt hat. DARLINGTON ist der Ansicht, daß die Meiosischromosomen 8—15 Großspiralen enthalten, in denen sich etwa 80 Kleinspiralen verbergen. Das Problem dürfte noch nicht endgültig gelöst sein, wenngleich vieles für die Richtigkeit von KUWADA und DARLINGTONs Auffassung spricht (vgl. auch STRAUB 1938).

Diese umfangreichen und teilweise mühevollen Arbeiten, die während den letzten 10 Jahren ausgeführt worden sind, haben demnach grundlegende Gegensätze zwischen den Mitosis- und Meiosischromosomen nachgewiesen. Der Unterschied in ihrem Verhalten ist wahrscheinlich eine Voraussetzung für die, aber auch teilweise eine Folge der Chiasmabildung.

Seinerseits dürfte er jedoch zweifellos mit einem grundlegenden Unterschied in der Physiologie der Kernteilungen zusammenhängen.

Vergleichende Untersuchungen über die Beziehungen der Kernteilungen zueinander.

Kennzeichnend für alle höheren Tiere und Pflanzen ist, daß die Meiosis in einem bestimmten Zeitpunkt des Entwicklungszyklus eintritt, nämlich nach der Blütenbildung bei den Pflanzen und nach der Geschlechtsreife bei den Tieren. Die entwicklungsphysiologischen Faktoren, die die Blütenbildung bedingen, bestimmen auch die Geschlechtszellenbildung und damit die Meiosis. Eine experimentelle Möglichkeit zur Trennung dieser Prozesse besteht nicht. Bei gewissen Farnarten (*Scolopendrium*, ANDERSSON-KOTTÖ und GAEDNER 1936) ist indessen eine Reduktion der Chromosomenzahl in mitotischen Geweben im Zusammenhang mit der Spermatozoidbildung nachgewiesen worden. Die Zellen des Gametophyten können also eine regelrechte Reduktionsteilung durchmachen. Etwas ähnliches kommt laut BERGER (1938) in endomitotischen Geweben von *Culex* vor. Meiosisähnliche Chromosomen werden in mitotischen Geweben oft beobachtet (z. B. Tapetenzellen, FAGERLIND 1940, GENTSCHKEFF 1941). Semiheterotypische Teilungen mit ganz kontrahierten Chromosomen sind in somatischen Geweben nach Röntgenbestrahlung aufgetreten (GELIN unveröff., vgl. auch STEINs somatische Reduktionsteilungen bei sog. Radiomorphosen, 1936). Andere ähnliche Befunde bringt TISCHLER (1942). Diese Fälle sind indessen selten und ihre Natur — mit Ausnahme der Zahlenreduktion bei *Scolopendrium* — erscheint fremdartig.

DARLINGTON Precocitytheorie besagt bekanntlich, daß die meiotische Prophase im Verhältnis zur Reproduktion der Chromosomen zu früh beginnt, wodurch die effektive Anziehung zwischen Chromosom und Chromosom statt zwischen Chromatid und Chromatid wie in der Mitosis sich geltend macht. Nach vollendeter Paarung treffen Reproduktion und Chiasmabildung gleichzeitig ein. Die Precocitytheorie muß indessen als Erklärungsgrund außer der Frühereife der Prophase noch ein anderes Moment einführen, nämlich die vollständige Entspiralisierung der Pachytänchromosomen, ohne die keine Paarung stattfinden kann. Die empirischen Ausgangspunkte der Theorie waren die anscheinend einfache Struktur der Leptotänchromosomen und die nur auf zwei homologe Chromosomen begrenzte lokale Paarung bei Polyploiden. Die Beobachtung, daß die prämeiotische Interphase bei gewissen Insekten von so kurzer Dauer sein kann, daß die Chromosomenindividualität morphologisch betrachtet nicht verschwindet, bildet laut DARLINGTON auch eine Stütze für die Richtigkeit der Theorie.

Nichts in DARLINGTONs Gedankenbau hat so viel Diskussion verursacht wie dies. Ein ausführlicher Bericht über das Für und Gegen ist nicht

notwendig, da die männliche Meiosis bei *Hieracium* — wie es mich dünkt — die Unhaltbarkeit festlegt.

Eine Zusammenfassung unseres damaligen Wissens über das Meiosis-Mitosis-problem bei den apomiktischen Gattungen gab GUSTAFSSON 1939. Später haben GENTSCHOFF und GUSTAFSSON 1940 sowie GENTSCHOFF 1941 neue Ergebnisse veröffentlicht. Eine schroffe Kritik von GUSTAFSSONS Erklärungsversuchen stammt von FAGERLIND (1940b).

1. Die Teilung in weiblichen Organen apomiktischer Pflanzengattungen.

In weiblichen Organen gewisser Gattungen mit aposporer Gametophytenbildung, wie z. B. *Alchemilla* und *Sorbus*, wird ein mehrzelliges Archespor angetroffen. Die reguläre Embryosackmutterzelle macht — soweit bekannt — entweder eine regelrechte Meiosis durch oder auch sie degeneriert in frühem Prophasestadium. Eine Möglichkeit sich mitotisch zu teilen besteht für dieselbe offenbar nicht, ihre Entwicklung ist an eine Richtung gebunden. Anders verhalten sich indessen die daneben liegenden sekundären Embryosackmutterzellen. Sie können *entweder* in eine meiotische Prophase eingehen *oder* nach gewissen Zellen- und Kernveränderungen sich durch eine typische Mitosis teilen, wobei Embryosäcke mit der unreduzierten Zahl entstehen. Soll die Teilung der sekundären EMZ mitotisch werden, so ist teils eine längere Dauer des Ruhestadiums erforderlich, teils — und dies ist unerlässlich — ein starkes Zellen- und Kernwachstum, auf das so gut wie immer eine Vakuolisierung des Zytoplasmas folgt. Gleichzeitig kommt es zu einer Auflösung der heterochromatischen Teile der Chromosomen, ähnlich der wie sie von CASPERSOHN für stark eiweißsynthetisierende Zellen angegeben wird. Früher hat Verfasser die Vakuolisierung mit einer Wasseraufnahme in Zusammenhang gesetzt. Die Möglichkeit, daß die Vakuolen aus Eiweiß bestehen, erscheint fortwährend ausgeschlossen.

Dieses Wachstum und die Vakuolisierung zeigen dieselben Kennzeichen wie die Verwandlung einer Makrospore zu einem einkernigen Embryosack oder die Ausbildung von aposporen Embryosäcken bei Gattungen und Arten mit einzelligem Archespor (z. B. bei *Hieracium pilosella*). Hieraus scheint mir geschlossen werden zu können, daß entweder die mitotische Tendenz sozusagen der meiotischen überlagert worden ist, oder auch daß gewisse Zellen von Beginn an rein mitotisch eingestellt waren, während andere durch physiologische Faktoren (Meiosissubstanzen?) in meiotische Stadien gelenkt worden sind (vgl. FAGERLIND 1937).

In gleicher Weise verhalten sich apomiktische Arten mit dem somatischen Typus von Diplosporie, d. h. die Teilung in der EMZ wird mitotisch; gleichzeitig setzen Wachstums- und Vakuolisierungsprozesse ein, natürlich begleitet von erhöhter Dauer des Interphasestadiums. Solche Gattungen und Arten sind *Antennaria alpina*, *Hieracium* subg. *Archieracium*, *Eupatorium glandulosum*, *Poa alpina* usw. Die meiotische Tendenz ist indessen

oft stark hervortretend. Bei gewissen Arten treten nämlich die EMZ in großer Frequenz (zuweilen etwa 50%) in eine Meiosis mit ungepaarten kontrahierten Chromosomen aber mit zufallsmäßiger Verteilung der Univalenten auf die beiden Pole ein, so daß es zu einer Zahlenreduktion kommt (der semiheterotypische Teilungstypus). Als Ergebnis entstehen außer Tetraden Pentaden, Hexaden und Heptaden. Die Bivalentbildung erscheint bei solchen Arten, deren PMZ hochgradige Paarung zeigen (gewisse *Antennaria*-Arten), häufig herabgesetzt. Bei *Hieracium* besteht laut BERGMAN 1941 starke Bivalentbildung. Außer diesem Teilungstypus entsteht zuweilen eine Äquatorialplatte mit Univalenten, die kontrahiert, d. h. wie in einer gewöhnlichen Meiosis spiralisiert sind (die pseudohomöotypische Metaphase). Bei *Hieracium* und *Antennaria* entsteht diese als ein Übergangstadium zum somatischen Teilungstypus, d. h. sie tritt nach Wachstums- und Vakuolisierungsercheinungen aber früher als bei der reinen Mitose ein. BERGMAN (1941) hat diese Auseinandersetzung — wie mir scheint — ohne Recht kritisiert.

In den meisten Fällen von Diplosporie ist das Archespor einzellig und eine Schwierigkeit, EMZ zu unterscheiden, besteht nicht. Unabhängig von dem nachfolgenden Teilungstypus — somatisch, pseudohomöotypisch oder semiheterotypisch — weicht die EMZ deutlich von den umgebenden Nuzelluszellen ab. Bei *Ochna* (CHIARUGI und FRANCONI 1930) u. a. Gattungen unterbleibt mitunter die Bildung einer EMZ. Diese Erscheinung kann aber nicht an der Tatsache rütteln, daß in der Mehrzahl Fälle die EMZ in gleicher Weise bei apomiktischen und sexuellen Arten differenziert wird. Die EMZ mag sich also in noch so somatischer Richtung entwickeln, eine Ähnlichkeit zwischen ihr und den umgebenden Nuzelluszellen liegt nicht vor.

Obgleich die Meiosisveränderungen am besten an PMZ klargelegt werden konnten, seien als Grundlage für die Besprechung auf S. 384 folgende empirische Tatsachen angeführt.

Schon in sehr frühen Prophasestadien können die zwei Teilungstypen (der meiotische und der mitotische Typus) voneinander unterschieden werden. Die zur Reduktionsteilung führenden EMZ zeigen die Synapsis-Erscheinung mit deutlich differenzierten Chromosomenfäden; die EMZ dagegen, die später eine Mitosis durchmachen, werden durch Chromatinarmut und deutliche Ruheigenschaften des Kerns gekennzeichnet. In diesem Anfangsstadium sind die zwei Arten von EMZ gleichgroß und haben denselben Entwicklungsgrad erreicht, was mit Hilfe der Persistenz des Nuzellus-Tapetums beurteilt werden kann. Während die EMZ des einen Typus in die Meiosis eintritt (späte Prophase — Metaphase), verbleibt die des zweiten Typus fortwährend im Ruhestadium. Die letztgenannten EMZ nehmen allmählich an Länge und Breite zu, was auch für ihre Kerne gilt, und bald kommt es zur Vakuolenbildung. In diesem Zeitpunkt ist das Nuzellustapetum durchbrochen worden, es degeneriert teilweise

und die EMZ (= der einkernige Embryosack) ist gegen die Mikropyle gewandert. Bei *Hieracium umbellatum* f. *apomicta* (BERGMAN 1941, S. 3) erfolgt die Vakuolenbildung schon vor der Auflösung des Nuzellus-tapetums. Wahrscheinlich gilt dasselbe für *Antennaria intermedia* und *magellanica* (BERGMAN 1935, 1937), *Eupatorium glandulosum* (HOLMGREN 1919) u. a. Bei *Arnica alpina* (AFZELIUS 1936) wächst die EMZ erheblich, bevor die Auflösung des Tapetums beginnt. Sämtliche Autoren betonen, daß das Wachstum der EMZ kontinuierlich stattfindet. Es verhält sich demnach nicht so, daß die EMZ lange Zeit in einem stationären Entwicklungsstadium verbleibt um dann plötzlich und schnell an Volumen zuzunehmen, sondern sie wächst allmählich und in einem gewissen Zeitpunkt werden Vakuolen gebildet, die nach und nach gleichwie die Zellkerne an Umfang zunehmen.

Eine andere Tatsache ist, daß die schließlich erreichte Größe und die Vakuolisierung der EMZ erheblich stärker ist als bei den durch Meiosis entstandenen einkernigen Embryosäcken. Der Vakuolisierungsprozeß schießt sozusagen über das Ziel hinaus.

In der Arbeit des Verfassers von 1939 sind diese Erscheinungen folgendermaßen erklärt worden: In den Fällen von regulärer Diplosporie kehrt die Teilung nicht zu normaler Mitosis zurück sondern Zelle und Kern wachsen enorm nach Hydratations- und Vakuolisierungsprozessen¹, die ähnlich denen nach Auxinbehandlung sind. Wenn daher ein Hormon mit hydratisierender Wirkung auf der weiblichen Seite einwirkt, so wird die meiotische Tendenz aufgehoben. Diese Arbeitshypothese, die FAGERLINDS Mißfallen erweckt hat (1940b), scheint mir noch immer die beste Erklärung zu geben. Daß ein Zusammenspiel oder ein Wettkampf zwischen meiotisierenden und mitotischen Kräften in diesen Infloreszenzen mit ihrer Mischung von verschiedenen Meiosistypen stattfindet, dürfte offenbar sein, wie der Verlauf auch gedeutet werden mag.

Schließlich sei hier hervorgehoben, daß wir vor 1940 so gut wie nichts über die Gesetzmäßigkeit der Meiosisdegeneration in PMZ wußten. Trotz aller Verschiedenheiten muß die veränderte Teilung der EMZ im Lichte der Erscheinungen in der PMZ betrachtet werden.

2. Die Teilung in männlichen Organen von apomiktischen Pflanzen.

Das Studium von EMZ und ihrer Teilungen ist ziemlich schwierig. Um so klarer liegen die Verhältnisse in den PMZ. Hier kommt es indessen nie oder jedenfalls nur sehr selten zu den Vakuolisierungs- und Wachstumserscheinungen, die für die weiblichen Organe von aposporen und vielen diplosporen Organismen charakteristisch sind (vgl. GUSTAFSSON 1938).

¹ Dies sollte vielleicht besser folgendermaßen ausgedrückt worden sein: ... Zelle und Kern wachsen enorm im Zusammenhang mit gewissen Hydratations- und Vakuolisierungserscheinungen.

Es ist ursprünglich GENTSCHOFFS Verdienst, daß eine Erklärung des zeitlichen Verlaufes gegeben werden konnte (1937). Er wies nämlich eine Übereinstimmung zwischen dem Teilungstypus in der PMZ und der Kernanzahl und dem Entwicklungsstadium der Tapetumzellen nach.

Rein mitotische Teilungen wurden 1935 in PMZ von *Hieracium lapponicum* beobachtet (s. die schematischen Bilder bei GUSTAFSSON 1935), obgleich sie damals nicht in Beziehung zum Meiosismechanismus oder zu den übrigen Degenerationserscheinungen bei *Hieracium* gebracht werden konnten. Sie wichen von der gewöhnlichen Mitosis dadurch ab, daß nur Prophase und Metaphase typisch waren. Im Anaphasenstadium kam es allgemein zu einer Degeneration der Pollenfächer. Eine Chromosomentrennung kam daher nicht vor. Von Interesse für das folgende ist, daß die Zellen mit diesem Teilungstypus sehr klein waren und dicht nebeneinander lagen, wie es in der prämeiotischen Interphase bei anderen Pflanzen der Fall ist. Die Prophase setzte also sehr früh ein. Als verspätet kann sie unter keinen Umständen bezeichnet werden, und die Entstehung der somatischen Teilung kann daher vom Standpunkt der Precocitytheorie nicht erklärt werden.

Bei den zwei Arten *H. amplexicaule* und *robustum* fanden GENTSCHOFF und GUSTAFSSON (1940) verschiedene Teilungstypen, denen GUSTAFSSON (unveröff.) weitere hat hinzufügen können. Die PMZ zeigten folgende Erscheinungen: 1. *Univalente* Chromosomen mit Mitosisaussehen; die Verteilung in der Anaphase ist indessen zufallsmäßig und führt zu Zahlenreduktion; 2. *univalente* Chromosomen mit Meiosiskontraktion; die Verteilung ist zufallsmäßig und führt zu Reduktion; 3. *einzelne Bivalente*; sämtliche Chromosomen zeigen am ehesten Mitosisaussehen; die Verteilung ist in bezug auf die Univalente zufallsmäßig und führt zu einer Reduktion; 4. *einzelne Bivalente*; alle Chromosomen mit Meiosiskontraktion; die Teilung führt zu Reduktion und ist zufallsmäßig; 5. *univalente* Chromosomen mit Meiosiskontraktion; sämtliche Chromosomen werden in die Äquatorialebene eingeordnet und die Teilung erfolgt äquatorial, d. h. jeder Tochterkern bekommt die unreduzierte Chromosomenzahl; 6. *einzelne Bivalente*; alle Chromosomen haben Meiosiskontraktion; sowohl Bi- wie Univalente werden in die Äquatorialebene eingeordnet und die Teilung verläuft äquatorial für die Univalenten, reduktional für die Bivalenten; 7. Chromosomenpaarung mit *hoher Bivalentenanzahl*; als Folge von Strukturheterozygotie entstehen Inversionsbrücken und Fragmente. Außerdem gibt es 8. eine eigentümliche Form von *doppelter Reproduktion*, die der bei *Spinacia* ähnlich ist, bei der also die Chromosomenzahl in der Metaphase verdoppelt ist; Bivalente kommen nie vor, die Univalente können Meiosis- oder Mitosisaussehen haben, und 9. *einen weitgehenden Zerfall* der Chromosomen in kleine Stücke. Diese Fragmentation fällt bei *H. amplexicaule* mit den Teilungstypus 5, bei *H. robustum* mit dem Teilungstypus 7 zusammen. In einzelnen Pollenfächern treten 10. *Teilungen von*

mitotischem Charakter nach nuklearen Kontraktionserscheinungen auf, wie sie ursprünglich von ROSENBERG (1927) beschrieben worden sind.

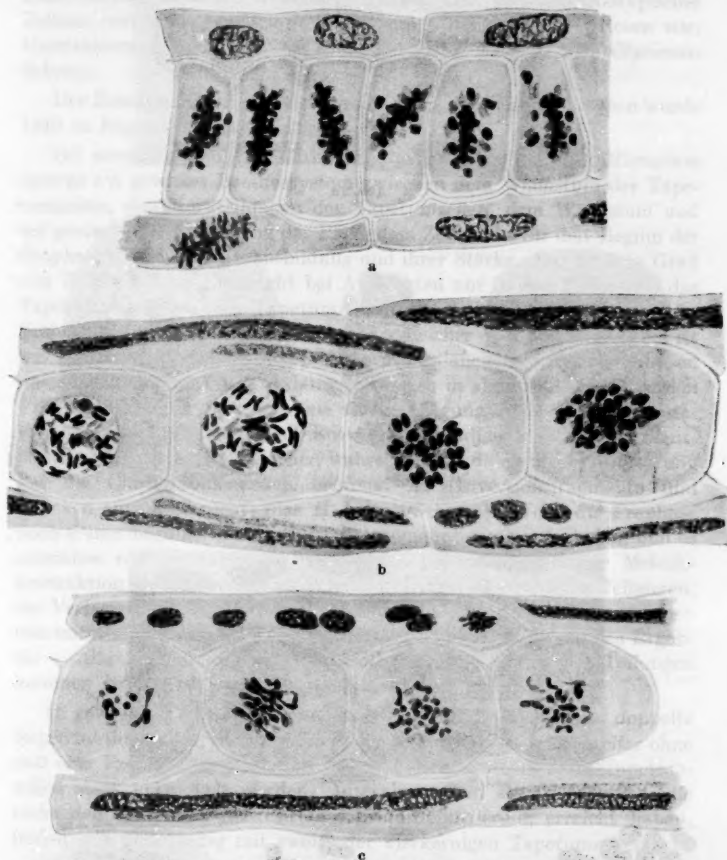


Abb. 1. Die Entwicklung des Tapetums, das Wachstum der PMZ und der Teilungstypus b) dem apomiktischen *Hieracium robustum*. Metaphase I. — a) Junges Tapetum, kleine JZ; als Folgeerscheinung ungepaarte Chromosomen (semiheterotypische Teilung). — Wohlentwickeltes Tapetum, stark angewachsene PMZ und doppelte Reproduktion der Chromosomen. Bivalente treten nicht auf. — c) Tapetum- und PMZ-Entwicklung genau wie bei sexuellen Arten. Als Folgeerscheinung eine hohe Zahl von Bivalenten. — Umgeändert nach GENSCHKEFF und GUSTAFSSON 1940.

In Übereinstimmung mit ROSENBERGS Betrachtungsweise entsprechen Typus 1 und 2 der semiheterotypischen Teilung oder dem sog.

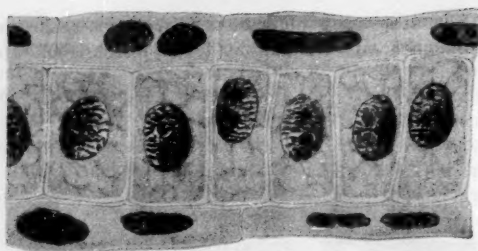


Abb. 2a.

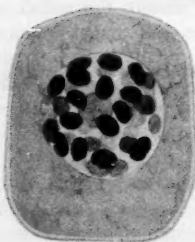


Abb. 2b.

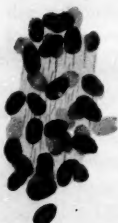


Abb. 2c.



Abb. 2d.

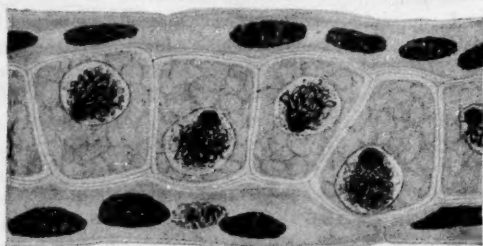


Abb. 3a.

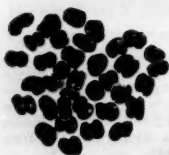


Abb. 3b.

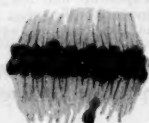


Abb. 3c.



Abb. 3d.



Abb. 3e.

H. laevigatum-Schema. Die Typen 3 und 4 folgen am nächsten dem *H. boreale*-Schema, 5 ist eine pseudohomöotypische Teilung, 6 ist ein Zwischending zwischen normaler Meiosis und pseudohomöotypischer Teilung (ein ähnlicher Meiosistypus kommt bei den *canina*-Rosen vor; GUSTAFSSON und HÅKANSSON 1942), 10 folgt dem *H. pseudoillyricum*-Schema.

Der Zusammenhang zwischen den verschiedenen Teilungstypen wurde 1940 in folgender Weise klargelegt (l. c. S. 234—241).

Bei sexuellen und apomiktischen Biotypen der Gattung *Hieracium* besteht ein gewisses Balancesystem zwischen dem Wachstum der Tapetumzellen, den Kernteilungen der Tapetumzellen, dem Wachstum und der gesonderten Abrundung der PMZ, dem Zeitpunkt für den Beginn der Prophase sowie der Bivalentbildung und ihrer Stärke. Der höchste Grad von Bivalentbildung entsteht bei Apomikten nur in den Fällen, wo das Tapetumwachstum, die Tapetummitosen und das PMZ-Wachstum im Verhältnis zum Beginn der Prophase in gleicher Weise ausbalanciert ist wie bei den Sexuellen (Abb. 1). Diese Ausbalancierung kommt indessen nur ausnahmsweise vor und dann vorzüglich in alten PMZ von lateralen Blüten. Es besteht nämlich eine starke Neigung zur Verschiebung des Prophasebeginns nach frühen Entwicklungsstadien hin. Die Bivalentbildung wird dadurch schwächer, wahrscheinlich da die Pachytänpaarung auf die Chromosomenenden begrenzt ist (Inversionsfragmente und Brücken entstehen nicht) (das *H. boreale*-Schema). Wenn die Prophase noch früher beginnt, wird jede Chromosomenpaarung aufgehoben und es entstehen nur Univalente. Diese zeigen jedoch noch immer Meiosiskontraktion (das *H. laevigatum*-Schema). In den allerfrühesten Teilungen, die Verfasser bei *H. robustum* beobachtet hat, haben die Chromosomen rein mitotische Form, aber die Metaphase ist mit Hinsicht auf das Ergebnis — die Zahlenreduktion — meiotisch. Rein mitotische Teilungen kommen jedoch bei anderen Apomikten vor.

In gewissen Pollenfächern von *H. robustum*, die später sog. doppelte Reproduktion geben, wachsen die Ruhezellen und Ruhekerne weiter ohne daß eine Prophase beginnt. In diesen Fällen sind auch die Tapetumzellen stark entwickelt worden. Interphase- und Prophasestadien, die nicht den Zeitpunkt der Chromosomendifferenzierung erreicht haben, finden sich gleichzeitig mit zwei- oder vierkernigen Tapetumzellen vor.

Abb. 2 und 3. Prophasebeginn, PMZ-Wachstum, Tapetumentwicklung und deren Einfluß auf die Meiosis des apomiktischen *Hieracium amplexicaule*. — 2a. Sehr frühe Prophase mit mitosisähnlichem Aussehen. PMZ und Tapetumzellen noch klein. — 2b. Diakinesis mit ungepaarten Chromosomen. — 2c. Semiheterotypische Metaphase. — 2d. Interkinese. — 3a. Der Prophasekern ist stark angeschwollen und zeigt Synapsisphänomene. PMZ und Tapetumzellen stark zugewachsen. — 3b und c. Univalente ordnen sich in die Äquatorbene des Spindels ein (pseudohomöotypische Teilung), von oben und von der Seite gesehen. — 3d. Hohe Bivalentbildung. — 3e. Interkinese. — Pseudohomöotypische Teilung tritt in den kleinsten, Bivalentbildung in den größten PMZ, welche den zweiten Prophasentypus zeigen, ein. — Umgeändert nach GENTSCHOFF und GUSTAFSSON 1940.

In späteren Prophasestadien enthalten die Tapetumzellen vier einfache oder fusionierte Kerne. Die PMZ in Interphase sind bei diesem Teilungstypus weit größer als sie es bei semiheterotypischer Teilung je werden und auch größer als bei Bivalentbildung. Zu einer zweiten Wachstumsperiode kommt es während der Prophase (wahrscheinlich als Folge der Chromosomenvermehrung). Die Tapetumzellen haben schon während der frühen Prophase ihre endgültige Größe erreicht und nehmen dann gar nicht mehr zu. Sie sind viel größer als bei semiheterotypischen Teilungen, aber kleiner als in Pollenfächern mit starker Bivalentbildung. Kurz gesagt: In Fächern mit doppelter Reproduktion sind die PMZ weiter vorgeschritten und ihr Wachstum ist intensiver im Verhältnis zur Tapetumentwicklung als in Fächern mit Bivalentbildung, aber sowohl PMZ- wie Tapetumentwicklung sind stärker als bei der semiheterotypischen Teilung.

Bei *H. amplexicaule* wurden vollkommen ausgebildete Teilungen vom pseudohomöotypischen Charakter beobachtet (Typus 5 oben). In verschiedenen Teilen der Infloreszenz dieses Apomikten gab es zwei verschiedene Prophasentypen (Abb. 2—3), die eine hauptsächlich in median gelegenen Blüten und verbunden mit frühen Tapetumstadien, die andere vorzugsweise in lateralen Blüten, wo die Tapetumentwicklung überdies wesentlich weiter vorgeschritten war. Im Prophasentypus 1 ist die frühe Prophase am ehesten mitosisähnlich. Der Prophasentypus 2 ist deutlich meiotisch mit sog. Synapsisstadien. Der Prophasentypus 1 führt zu semiheterotypischen Metaphasen mit vollständiger Univalentbildung und über die Kernspindel zerstreuten Chromosomen. Die beiden Interkinesekerne haben das abgerundete Aussehen, das für das *H. boreale*- und *laevigatum*-Schema so charakteristisch ist. Der Prophasentypus 2 führt zu pseudohomöotypischer Metaphase und zu Bivalentbildung. Letztere variiert in ihrem Ausmaß. Das Tapetum- und PMZ-Wachstum zeigt, daß die semiheterotypische Teilung sehr früh stattfindet, da der Prophasebeginn im Verhältnis zur Entwicklung von PMZ und Tapetumzellen beschleunigt war. Pseudohomöotypische Metaphase und Bivalentbildung entstehen, wenn die Prophase wesentlich später einsetzt, aber der erstgenannte Teilungstypus tritt in solchen Zellen auf, die auf der Minusseite der Wachstumskurve liegen, der letztgenannte Teilungstypus in Zellen mit der kräftigsten Entwicklung. Die pseudohomöotypische Metaphase kann in gewissem Maße als eine überreife semiheterotypische Teilung betrachtet werden. Eine Stütze für diese Auffassung findet sich in der angegebenen Arbeit. Bei *H. amplexicaule* ist die pseudohomöotypische Teilung also zeitlich nicht so vorgeschritten, wie es bei der Bildung von Bivalenten der Fall ist. Ob dies für die PMZ allgemein gilt, kann noch nicht entschieden werden.

FAGERLIND (1940b) hat den Zeitpunkt für den Eintritt der ersten Teilung in EMZ bei sexuellen und apomiktischen *Wikstroemia*-Arten

verglichen und gefunden, daß die Teilung bei der apomiktischen *W. viridiflora* später eintritt als bei den diploiden sexuellen. Wahrscheinlich kann die pseudohomöotypische Teilung in EMZ bei apomiktischen Pflanzen sowohl zu früh wie zu spät im Verhältnis zur normalen Bivalentbildung stattfinden. Aus FAGERLINDS Ergebnissen können indessen keine allgemeinen Schlüsse gezogen werden, da er diploide und triploide Arten miteinander vergleicht und da die Kernteilungsgeschwindigkeit in polyploiden Geweben und Organismen oft als unmittelbare Folge der Chromosomenzahl herabgesetzt sein kann (vgl. z. B. den Zeitpunkt für den Beginn der ersten Kernteilungen in keimenden Samen von *Triticum*-Arten).

GUSTAFSSON (1935) und GENTSCHKEFF (1941) beobachteten ganz mitotische Teilungen in PMZ, und letzterem gelang es in bemerkenswerter Weise die Gesetzmäßigkeit für den Eintritt der mitotischen Teilungen klarzulegen. Außerdem fand GENTSCHKEFF noch einen Degenerationstypus bei *H. racemosum*, bei dem die Kerne ohne vorherige Teilung degenerieren.

Die drei Haupttypen — mitotische Teilung, semiheterotypische Teilung, Bivalentbildung — entstehen gleichzeitig mit bestimmten Veränderungen im Tapetum. Bei *H. umbellatum* f. *apomicta* mit Mitosis in den PMZ verläuft die Teilung schnell. In der Prophase sind die Tapetumzellen einkernig, in der Meta- bis Anaphase ein- oder zweikernig und in der späten Anaphase zwei- bis vierkernig. Darauf degenerieren die PMZ. — Bei Apomikten mit semiheterotypischer Teilung (der *H. laevigatum*-Typus) setzt die Prophase ein, wenn die Tapetumzellen ein- oder zweikernig sind; die Metaphase und Interkinese, wenn die Tapetumzellen zwei- bis vierkernig sind. Zu Beginn des achtkernigen Tapetumstadiums erfolgt die zweite Teilung der PMZ. — Im gleichen Zeitpunkt, wenn die Tapetumzellen acht einfache oder fusionierte Kerne enthalten, sind die PMZ, die zu Bivalentbildung führen, immer noch in der Diakinese oder ersten Metaphase. Offenbar beginnen sie erst mit der Meiosis wenn ein gut entwickeltes Tapetum entstanden ist. „It is clear from the scheme, that the prolongation of the prophase is correlated with the meiotic behavior of the PMC:s and vice versa. Thus a balance system exists with respect to the mutual relation of tapetum and PMC-development.“

Wenn wir die Erklärungsversuche für den Augenblick beiseite lassen und uns nur an die unmittelbaren Tatsachen halten, geht klar hervor, 1. daß, je früher die meiotische Prophase einsetzt, die Teilung um so mehr somatisiert wird, bis sie schließlich als rein mitotisch bezeichnet werden muß; 2. daß das Übergangsstadium zwischen vollständig aufgehobener Paarung und starker Bivalentbildung durch ein schwaches und variierendes Vorkommen von Bivalenten ohne Brücken und Fragmente gekennzeichnet wird; die Pachytänpaarung ist hier schwach und wahrscheinlich auf die Chromosomenenden beschränkt gewesen; 3. daß regelmäßige

Bivalentbildung nur auftritt, wenn ein ganz bestimmtes Gleichgewicht zwischen Entwicklung des Tapetums, PMZ-Wachstum und Beginn der Prophase vorhanden ist.

Eine unmittelbare Folge dieser empirischen Tatsachen ist, daß die „Frühreife“ der Prophase die Teilung in keiner Weise meiotisch sondern eher mitotisch zu beeinflussen scheint. Die Meiosis und Mitosis unterscheiden sich voneinander durch kein solches Zeitverhältnis.

STRAUBs Temperaturversuche mit *Gasteria*.

Von den Arbeiten der OEHLKERS-Schule über die Physiologie der Meiosis sind in dieser Übersicht besonders die Arbeiten von STRAUB (1937, 1939) beachtenswert. Ihre Bedeutung wird durch die Vorzüglichkeit des Materials und die Menge der ausgeführten Versuche noch mehr erhöht. Die Infloreszenz von *Gasteria* gestattete eine genaue Bestimmung der Meiosisstadien und ihre Dauer. Die untersuchten Pflanzen wurden unter konstanten Bedingungen bei sowohl hoher wie niedriger Temperatur gezogen und einer Serie verschiedener Wärme- und Kälteschocks ausgesetzt. Asynapsis, Desynapsis, unreduzierte Gameten, tetraploide PMZ entstanden nach bestimmten Umweltveränderungen. Hier können nur einige der wichtigsten Ergebnisse behandelt werden.

Die Meiosisstadien zeigen, wenn die Pflanzen bei $+20^{\circ}$ gezogen werden, sehr verschieden lange Dauer. Von der prämeiotischen Telophase bis zum fertigen Pollenstadium vergeht eine Zeit von etwa 12 Tagen. Hiervon kommen auf die Interphase ein Tag, die Prophase 6 Tage, die erste Metaphase und zweite Teilung zusammen 1 Tag, die Tetradenbildung 1—2 und die Pollenentwicklung etwa 2—3 Tage. Die Hauptstadien der Prophase — Leptotän, Pachytän und Diplotän (die Diakinese eingerechnet) — erfordern 3, 2 bzw 1 Tag; d. h. fast die Hälfte des ganzen Meiosisverlaufes bis zum fertigen Pollen wird von den für die Chiasmabildung notwendigen Vorstadien in Anspruch genommen. In EMZ verläuft die Meiosis bedeutend schneller, aber auch hier dauern die Leptotän- und Pachytänstadien lange. Obgleich genaue Zeitbestimmungen nur in einer geringen Anzahl von Untersuchungen ausgeführt worden sind, dürften STRAUBs Ergebnisse verallgemeinert werden können. Die lange Dauer der Meiosis variiert natürlich wesentlich mit der Temperatur und den übrigen Umweltbedingungen, aber im großen kann sie auf ein paar Tage bis zu einer Woche, ja zuweilen sogar bis zu einem Monat berechnet werden (SAX und SAX 1935). Dies steht im ausgesprochenen Gegensatz zur Mitosis, die schnell verläuft und von Ruhestadium zu Ruhestadium nur wenige Stunden erfordert. Aber auch die mitotische Prophase nimmt etwa 40—50% des ganzen Mitosiszyklus ein (TISCHLER 1942).

Bei hoher Temperatur (über $+35^{\circ}$) aber vor allem bei niedriger ($+5^{\circ}$) wird die Chromosomenpaarung und Chiasmabildung in den Zellen aufgehoben, die sich im Leptotänstadium befunden haben; die Chromosomen-

kontraktion nimmt an Stärke ab und in Extremfällen entstehen Zellen, die anstatt einer Meiosis eine typische Mitosis durchmachen; die Chromosomen haben hier die mitotische Form, d. h. sie zeigen engere, aber bedeutend mehr Spiralen. „Diese Mitosen kommen also offenbar dadurch zustande, daß die zunächst meiotisch gebauten Chromosomen in den mitotischen Zustand übergehen und eine Teilung vollziehen.“

In solchen PMZ, die lange Zeit niedrigen Temperaturen ausgesetzt waren, paaren sich die Chromosomen gar nicht. In gewissen Zellen mit frühen Diplotänstadien gibt es Fäden mit deutlichem Längsspalt und ihre Anzahl entspricht der diploiden. Die Chromosomenlänge ist dieselbe, ob die Leptotänkerne später asynaptische oder normale Metaphasen geben. Die Entspiralisierung und Streckung der Chromonemata ist allerdings eine Voraussetzung für das Zustandekommen einer Paarung, aber eine Asynapsis kann auch eintreten wenn die Entspiralisierung vollständig geworden ist. Wahrscheinlich verhindert in solchen Fällen die schnell eintretende Kontraktion eine Paarung. STRAUB (1938, 1939) schließt sich daher dem von K. und H. SAX (1935) geäußerten Gedanken an, daß der wesentliche Unterschied zwischen Meiosis und Mitosis darin besteht, daß die mitotische Prophase wesentlich kürzer ist als die meiotische; „mit der kürzeren Dauer soll eine raschere Kontraktion und damit die Paarungsunmöglichkeit der Mitosis verbunden sein.“

Diese experimentellen Daten ergänzen die morphologischen Beobachtungen bei *Hieracium*. Sie zeigen zweifellos in dieselbe Richtung.

Schließlich sei betont, daß innerhalb einer Infloreszenz oder sogar in ein und derselben Blüte eines Apomikten oft verschiedene physiologische Zustände herrschen können, so daß die Meiosis mit der Lage der Blüte sehr erheblich variieren kann. Noch deutlicher ist diese Erscheinung in einer Serie von Apomikten mit vollständiger Bivalentbildung auf der männlichen aber mit geringer oder fehlender Paarung auf der weiblichen Seite (GUSTAFSSON 1938). Die ausgebliebene Paarung kann also nicht auf fehlender Homologie beruhen. Ein endgültiger Beweis für diese Auffassung wurde bei einem *Taraxacum*-Apomikten mit in der EMZ spontan verdoppelter Chromosomenzahl erhalten. Obwohl jedes Chromosom wenigstens einen ganz identischen Partner gehabt haben muß, blieb jede Paarung aus. CHRISTOFF (1940) wies dieselbe Erscheinung bei mit Colchicin polyploidisiertem Material von *Hieracium* nach. Die Univalentbildung blieb bei der Autotetraploiden dieselbe wie bei dem ursprünglichen Apomikten. Ein durchgehender Unterschied zwischen Männchen- und Weibchenmeiosis wurde auch bei *Pygaera*-Bastarden von FEDERLEY 1932 nachgewiesen.

Die Struktur der Meiosis.

Wenn wir von SAX und SAX' Meiosisauffassung als der gegenwärtig wahrscheinlichsten ausgehen und die Meiosisdegeneration bei *Hieracium* klarzulegen versuchen, gelangen wir zu folgendem Resultat.

1. In den Fällen wo die Prophase die für eine normale Meiosis charakteristischen Eigenschaften in bezug auf Aussehen und Dauer hat, verläuft die Teilung mit Hinblick auf Chromosomenkontraktion, Bivalentbildung und Anaphasenseparation vollkommen regelmäßig. Diese Erscheinung wird sehr deutlich durch die zwei Prophasentypen bei *H. amplexicaule* beleuchtet (Abb. 2—3). Die eine von diesen ist in ihrem Aussehen mitotisch sowie von kurzer Dauer und geht später in eine semiheterotypische Metaphase ganz ohne Bivalente über. Die zweite zeigt sog. Synapsisstadien mit starker Anschwellung des Kerns und gibt reichlich Bivalentbildung. Übergangstypen zwischen den zwei Teilungstypen kommen vor, teils sog. pseudohomöotypische Metaphasen, ausschließlich mit Univalenten oder mit einzelnen Bivalenten und mit dem Rest der Univalenten in der Äquatorialebene versammelt, teils Metaphasen mit einer geringen Anzahl von Bivalenten und den übrigen Chromosomen als Univalente über die Kernspindel zerstreut. In Fällen mit starker Bivalentbildung hat die PMZ schon vor der ersten Metaphase die für Meiosisstadien von Sexuellen kennzeichnende Größe, die abgerundete Form und die von anderen PMZ freie Lage erreicht.

2. Je früher die Prophase einsetzt und je schneller sie im Verhältnis zur PMZ- und Tapetumentwicklung verläuft, um so mehr ent-meiotisiert wird die Teilung um schließlich ganz mitotisch zu werden. In solchen Fällen unterbleibt auch die starke Kernanschwellung. In Übereinstimmung mit SAX und SAXs Auffassung bedeutet dies, daß „the much more leisurely process of meiosis“ die für die Mitosis spezifische Teilungsgeschwindigkeit erwirbt und daß die Entspiralisierung der Chromosomen nicht vollendet wird bevor die neue Spiralisierung einsetzt. Als Folge unterbleibt die Bivalentbildung und in gewissen Fällen auch die meiotische Kontraktion. Daß die Teilung in ihrem Ergebnis jedoch häufig meiotisch ist (Zahlenreduktion), hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß der Zeitpunkt für die Teilung der Centromeren im Verhältnis zum veränderten Meiosistypus nicht vollkommen ausbalanciert ist.

Bei einem Versuch, diese Veränderungen näher zu analysieren, muß zuerst hervorgehoben werden, daß die meiotische Prophase früher, gleichzeitig oder später einsetzen kann als dies bei entsprechenden Sexuellen der Fall ist. Nur wenn Pollenmutterzell- und Kernwachstum, Tapetumentwicklung und Beginn der Prophase die gleiche innere Balance aufweisen wie bei sexuellen Typen, kommt es zu regelmäßiger Bivalentbildung. Folgende Arbeitshypothese, die keineswegs Anspruch auf Endgültigkeit macht, sei formuliert. Zu beachten ist, daß abgesehen davon, ob die Hypothese richtig ist oder nicht, das Material, auf das sie sich stützt, bei einer eventuellen Kritik nicht vernachlässigt werden kann.

Die Meiosis unterscheidet sich von der Mitosis durch eine Verzögerung oder eher eine Verlängerung des Prophasestadiums. Während der langedauernden Leptotän-, Zygotän- und Pachytänstadien erfolgt eine

vollständige Entspiralisierung der Chromosomen. Wenn das Leptotänchromosom aus zwei oder vier Chromonemata besteht, so werden diese so dicht aneinander gepreßt, daß sie als eine Einheit fungieren. Unabhängig von der Chromonemanzahl ziehen die homologen Chromosomen in diesem Stadium sich gegenseitig an, Chromomer für Chromomer, Gen für Gen¹. Häufig beginnt die Paarung an dem Centromer oder in den heterochromatischen Teilen. Bei vielen Haploiden und Bastarden kann keine homologe Paarung stattfinden; anstatt dessen kommt es zu einer diffusen Attraktion zwischen Heterochromatin und Heterochromatin bzw. Centromer und Centromer. Die Paarung wird jedoch wegen der euchromatischen Nichthomologie nur ausnahmsweise so intim, daß Chiasmen ausgebildet werden. In späteren Stadien halten daher die nicht-homologen, locker gepaarten Chromosomen nur durch die gegenseitige Umwicklung zusammen (LEVAN 1942)².

Ob eine Teilung meiotisch oder mitotisch abläuft, wird durch unbekannte Verhältnisse im Ruhekern bestimmt, die ihrerseits von der Umwelt beeinflußt werden, beispielsweise durch meiotisierende oder mitotisierende Kräfte (Substanzen, vgl. GREGORY 1940). Beginnt die Prophase bevor die meiotisierenden Kräfte ihre Wirkung ganz geltend machen können, so entsteht ein halbmeiotischer Metaphasentypus. Die PMZ erreichen nicht ihr optimales Wachstum, die Anschwellung des Kerns wird schon zu Beginn eingestellt oder früh unterbrochen, die Entspiralisierung wird zeitlich nicht von der neuen Spiralisierung getrennt und die Chromosomen ziehen sich nicht oder nur unvollständig an. In extremen Fällen wird die Teilung schließlich ganz mitotisch, da Beginn der Prophase, Spindelbildung und Centromerenkonstitution genau aufeinander abgestimmt worden sind.

In gewissen Fällen, wenn das PMZ-Wachstum vor Einsetzen der meiotischen Kräfte ungewöhnlich stark geworden ist, kommt es zu doppelter Reproduktion im Ruhestadium. Die Teilung zeigt indessen fortwährend häufig Meiosischarakter (Reduktion der Chromosomenzahl, starke Kontraktion). Die Anzahl der Reproduktionen ist demnach ein für den Charakter der Teilung prinzipiell gleichgültiger Faktor.

In den weiblichen Organen gewisser apomiktischer Pflanzen ist ein anderes Mitosisierungssystem ausgebildet worden. In einem Teil der Samenanlagen machen die Kerne eine regelrechte Meiosis durch, in anderen dagegen eine Mitosis, in gewissen Fällen mit Übergangsformen zur Meiosis (*Hieracium*, *Antennaria*). Auch auf der weiblichen Seite ist der mitotische Teilungstypus mit einem kurz dauernden Prophasestadium

¹ Eine anregende Hypothese über den Paarungsmechanismus ist von FRIEDRICH-FREKSA (1940) ausgearbeitet worden.

² In den Tetraploiden paaren sich euchromatische Stücke nur paarweise, während sich heterochromatische Partien in Vierzahl anziehen können aber nicht brauchen (BOLLE und STRAUß 1942).

verknüpft. Im Ruhestadium kommt es zu einer Reihe von Veränderungen, die mit bestimmten Wachstums- und Vakuolisierungserscheinungen korreliert sind. Verfasser nahm 1939 an, daß diese auf die meiotischen Kräfte hemmend einwirkten, daß sie ihre Wirkung sozusagen neutralisierten. Wenn die meiotischen Erscheinungen in den männlichen Organen, wo die Somatisierung nie ganz vollständig wird oder oft nicht einmal alle Zellen eines Pollenfaches verändert, auch in Betracht gezogen werden, so erscheint es mir wahrscheinlich, daß die meiotisierenden Kräfte *alle* Samenanlagen beeinflussen. Zuweilen wird ihre Wirkung so stark oder der Zeitpunkt für ihren Angriff so früh, daß die mitotisierenden Kräfte sich erst nach der Tetradenbildung geltend machen können. Mitunter setzen die mitotisierenden (gametophytenbildenden) Kräfte so früh ein, daß das meiotisierende Prinzip ganz absorbiert oder unterdrückt wird. Bei *Antennaria* werden schon in sehr frühen Stadien zwei Typen von EMZ beobachtet, die eine mit meiotischen Prophasestadien, die andere mit starker Hydratisierung des Kerns (laut den Resultaten von CASPERSSON kann das Heterochromatin in dem letzten Fall als aufgelöst betrachtet werden). Zellenwachstum und Vakuolisierung nehmen gradweise zu. Es ist daher wahrscheinlich, daß in diesen Kernen die mitotisierende (gametophytenbildende) Kraft schon in der prämeiotischen Interphase zu wirken begonnen hat.

Natürlich bleiben noch viele Probleme zu lösen. Eines dieser betrifft das Verhältnis zwischen Tapetumzellen und PMZ. Der bestimmte Parallelismus in der Entwicklung scheint mir auf einen intimen Stoffwechselzusammenhang hinzuweisen. Die zwei Wachstumsperioden der Tapetumzellen bei Sexuellen, eine etwa im Pachytänstadium und eine nach der Tetradenbildung, lassen vermuten, daß die Wechselwirkung zwischen Tapetum und PMZ innig ist. Bekanntlich trägt das aufgelöste Tapetum in späten Stadien zur Ausformung der Pollenkörner bei. Wahrscheinlich ist seine Bedeutung während der Meiosisprophase nicht geringer. Den besten Beweis hierfür bringt STEBBINS und JENKINS' bekannte Untersuchung von *Crepis* (1939) (vgl. auch CHRISTOFF 1937—1938 und 1940). Die zur Erklärung dieses Zusammenhanges aufgestellten Hypothesen sind — was in der Natur der Sache liegt — noch recht unbestimmt (GUSTAFSSON 1939, GENTSCHKEFF und GUSTAFSSON 1940, GENTSCHKEFF 1941, STEBBINS 1941). Zukünftige experimentelle Untersuchungen werden hier wahrscheinlich einen bedeutungsvollen Einblick in das Wesen und Balancesystem der Meiosis geben. Verfasser hat seit Sommer 1940 eine Reihe von Versuchen über hierhergehörige Probleme bei *H. robustum* und *amplexicaule* ausgeführt. Über die erhaltenen Ergebnisse, die noch fragmentarisch sind, und sich hauptsächlich auf den Einfluß der Umwelt auf den Prophasebeginn beziehen, soll bei einer späteren Gelegenheit berichtet werden.

Zitierte Literatur.

- Atzelius, K.: Sv. bot. Tidskr. 30 (1936). — Andersson-Kottä, I. u. A. E. Gairdner: J. Genet. 32 (1936). — Berger, Ch.: Carnegie Inst. Publ. 496 (1938). — Bot. Gaz. 102 (1941). — Bergman, B.: Hereditas (Lund) 20 (1935). — Sv. bot. Tidskr. 31 (1937). — 35 (1941). — Bolle, L. u. J. Straub: Planta (Berl.) 22 (1942). — Caspersson, L.: Chromosoma 1 (1940a u. b). — Caspersson, T. u. J. Schultz: Nature (Lond.) 142 (1938). — Chiarugi, A. u. E. Francini: Nuovo Giorn. Bot. Ital. N. S. 37 (1930). — Christoff, M. Jb. Univ. Sofia, Med. Fak. 16 (1937—1938). — Planta (Berl.) 31 (1940). — Darlington, C. D.: Recent advances in cytology. London 1932. — Proc. roy. Soc. Lond. Ser. B. No 807. 118 (1935). — Fagerlind, F.: Acta Horti Berg. 11 (1937). — Hereditas (Lund.) 26 (1940a u. b). — Farmer, J. B. u. J. E. S. Moore: Quart. J. microsc. Sci. 48 (1905). — Federley, H.: Proc. Sixth. Int. Congr. of Gen. 1 (1932). — Friedrich-Freksa, H.: Naturwiss. 1940, 376. — Geitler, L.: Biol. Zbl. 58 (1938). — Gelin, O.: Hereditas (Lund.) 27 (1941). — Gentscheff, G.: Planta (Berl.) 27 (1937). — Yb. Univ. St. Kliment Orch. Sofia 19 (1941). — Gentscheff, G. u. A. Gustafsson: Hereditas (Lund.) 25 (1939); 26 (1940). — Gregory, W. C.: Amer. J. Bot. 27 (1940). Gustafsson, A.: Hereditas (Lund.) 20 (1935); 22 (1937); 25 (1939). — Biol. Zbl. 58 (1938). — Gustafsson, A. u. A. Håkansson: Bot. Notiser (in Vorbereitung). (1942). — Holmgren, L.: Kgl. Sv. Vetensk. Akad. Handl. 59 (1919). — Huskins, C. L., A. W. S. Hunter, H. B. Newcombe u. G. B. Wilson: Genetics 23 (1938). — Huskins, C. L. u. S. G. Smith: J. Genet. 28 (1934). — Kuwada, Y.: Cytologia 11 (1940). — Levan, A.: Hereditas (Lund.) 28 (1942). — Marshak, A.: J. gen. Physiol. 19 (1935). — Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 23 (1937); 25 (1939a u. b). — Marquardt, H.: Z. Bot. 32 (1938). — McClung, C. E.: J. Morph. a. Physiol. 43 (1927). — Nebel, B. R.: Amer. J. Bot. 24 (1937). — Bot. Rev. 5 (1939). — Pollitzer, G.: Pathologie der Mitose. Protoplasma-Monogr. (Berl.) 7 (1934). — Rosenberg, O.: Hereditas (Lund) 8 (1927). — Sax, K.: Genetics 23 (1938). — Sax, H. J. u. K.: J. Arnold Arbor. 16 (1935). — Stebbins, G. L.: Bot. Rev. 7 (1941). — Stebbins, G. L. u. J. A. Jenkins: Genetica ('s-Gravenhage) 21 (1939). — Stein, E.: Z. Abstammungslehre 72 (1936). — Straub, J.: Ber. dtsh. bot. Ges. 55 (1937). — Z. Bot. 33 (1938); 34 (1939). — Tischler, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2. Hälfte. Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin 1942.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung, Abt. für Mutationsforschung, Müncheberg/Mark und dem Institut für Vererbungswissenschaft der Reichsuniversität Straßburg.)

CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN MUTANTEN VON ANTIRRHINUM MAJUS L.¹

II. MOSAIKPFLANZEN MIT REZIPROKEN TRANSLOKATIONEN.

Von

G. POHLENDT.

Mit 14 Textabbildungen (23 Einzelbildern).

(Eingegangen am 20. August 1942.)

A. Beschreibung der Mosaikpflanzen.

Vorbemerkung. Die in diesem 2. Teil mitzuteilenden Untersuchungen schließen sich unmittelbar an die Untersuchungen an, über die im 1. Teil berichtet worden ist (POHLENDT 1942). Sie sind ebenfalls durchgeführt an Pflanzen aus den Kreuzungen

$$\frac{\text{uni} \text{ dich} \text{ Div} \text{ serp}}{\text{uni} \text{ dich} \text{ Div} \text{ serp}} \times \frac{\text{uni}^+ \text{ dich}^+ \text{ Div}^+ \text{ serp}^+}{\text{uni}^+ \text{ dich}^+ \text{ Div}^+ \text{ serp}^+} \rightarrow \frac{\text{uni} \text{ dich} \text{ Div} \text{ serp}}{\text{uni}^+ \text{ dich}^+ \text{ Div}^+ \text{ serp}^+}$$

und

$$\frac{\text{uni} \text{ comp} \text{ pal}^{\text{fin}} \text{ Div}}{\text{uni} \text{ comp} \text{ pal}^{\text{fin}} \text{ Div}} \times \frac{\text{uni}^+ \text{ comp}^+ \text{ pal}^{+2} \text{ Div}^+}{\text{uni}^+ \text{ comp}^+ \text{ pal}^+ \text{ Div}^+} \rightarrow \frac{\text{uni} \text{ comp} \text{ pal}^{\text{fin}} \text{ Div}}{\text{uni}^+ \text{ comp}^+ \text{ pal}^+ \text{ Div}^+},$$

im Rahmen der mir von Herrn Prof. Dr. KNAPP übertragenen cytologischen Analyse der in den Versuchen aufgetretenen Mutanten.

Unter der Nachkommenschaft dieser Kreuzungen, von der der weit- aus größte Teil dem Standard ähnlich war², befanden sich u. a. Pflanzen, die sich durch ihr von allen Erwartungen abweichendes Erscheinungsbild und besonders durch ihr Verhalten im Verlaufe der somatischen Entwicklung als ein einheitlicher Typ erwiesen. Sie unterschieden sich von den „normalen“ Pflanzen dadurch, daß sie die durch die normalen und die durch die abweichenden Allele der untersuchten Loci bestimmten Merkmale in mosaikartiger Verteilung aufwiesen. Abb. 2 z. B. zeigt Blüten einer solchen Pflanze aus dem „uni-dich-Div-serp-Versuch“, Abb. 3 aus dem „uni-comp-pal^{fin}-Div-Versuch“. Die Beteiligung der Farbmerkmale an der Ausbildung des Mosaiks ist unbestreitbar. Die dunklen Areale auf den Blüten sind „uni-Flecken“, die hellen Areale

¹ Mit Unterstützung durch den Reichsforschungsrat durchgeführt.

² Im I. Teil dieser Arbeit war versehentlich in der gleichen Formel dieser Locus mit pal^{fin} anstatt mit pal bezeichnet worden.

³ Die für die angeführten Loci heterozygoten Pflanzen unterscheiden sich phänisch vom Standardtyp dadurch, daß sich infolge der unvollkommenen Dominanz des Div⁺-Allels zwischen den beiden Kniehöckern der Blüte eine tiefe Grube befindet. Der sprachlichen Einfachheit halber bezeichne ich jedoch wie in Teil I der Arbeit (Fußnote 2, S. 282) diese Heterozygoten als „phän-normal“.

„*uni*⁺-Flecken“. In den Fällen, wo sich die weißen Flecken auf den Kniehöckern befinden, die nicht nur bei den $\frac{uni}{uni}$ -Pflanzen, sondern auch bei der Ausgangssippe gefärbt sein müßten, wird man diese als durch *pal*^{tin} bestimmt deuten müssen (Abb. 5). Bei einer anderen Lage der hellen Flecken auf der Blüte läßt sich nicht unterscheiden, ob sie durch *uni*⁺ *pal*⁺, *uni*⁺ *pal*^{tin} oder *uni* *pal*^{tin} bestimmt sind, da sich in homozygoten *pal*^{tin}-Pflanzen Unterschiede im *uni*-Locus nicht auswirken. Die in Abb. 2 in der 3. Blüte von links sichtbaren Asymmetrien der Kniehöcker sind auf die mosaikartige Verteilung des durch *Div*⁺ und des durch *Div* bestimmten Phäns zurückzuführen. Ob auch die durch die rezessiven Allele der Loci *comp* und *serp* bewirkten Merkmale am Erscheinungsbild dieser Mosaiktypen beteiligt waren, ließ sich naturgemäß schwer nachweisen, da sich diese Merkmale in einzelnen Zellen oder kleinen Gewebepartien nicht unmittelbar ausprägen können. In einigen dieser Pflanzen konnte eine Verkürzung des Griffels festgestellt werden, eine Eigenschaft, die sowohl den $\frac{comp}{comp}$ - als auch den $\frac{serp}{serp}$ -Pflanzen zukommt. Die übrigen für die Pflanzen dieser Konstitution charakteristischen Merkmale waren nicht oder nur unsicher festzustellen. Es ist wohl zu vermuten, daß die Verkürzung der Griffel auf das Vorkommen von Gewebepartien mit *comp*- oder *serp*-Merkmale zurückzuführen ist. Das Mosaik konnte außer in so grober Verteilung wie in Abb. 1 und in so feiner Verteilung wie in Abb. 4 auch in allen Zwischenstufen, etwa wie in Abb. 2 und in der 3. Blüte von links der Abb. 3 beobachtet werden. Auf eine feine Verteilung der durch *Div*⁺ und der durch *Div* bestimmten Merkmale ist wohl die genarbte Oberfläche der Kniehöcker und die Steilstellung der Unterlippenzipfel (1. Blüte von links Abb. 4) zurückzuführen. Die Blüte wird dadurch „*Div*-ähnlich“.

In den eben beschriebenen Fällen waren die Anteile der Areale mit den abweichenden Merkmalen in der Fleckung gleich groß wie die der normalen Areale. Daneben konnten Blüten beobachtet werden, die vorwiegend (2. Blüte von links in Abb. 3) oder ausschließlich (1. Blüte von links in Abb. 3) die durch die abweichenden Allele der untersuchten Loci bestimmten Merkmale trugen, und solche, bei denen vorwiegend normale Areale an der Färbung beteiligt waren (4. Blüte von links der Abb. 3). Schließlich tauchten auch noch Blüten auf, die Mosaik nur für die Farbmerkmale zeigten (Abb. 6 „*uni*-normal-Fleckung“) und selbst normale Blüten (d. h. solche mit dem Phän der für die untersuchten Loci Heterozygoten). Diese zeigten sich mit zunehmendem Alter der Pflanzen immer häufiger und endlich ausschließlich. 20 von insgesamt 27 Mosaikpflanzen aus dem „*uni*-*dich*-*Div*-*serp*-Versuch“ waren schließlich vollkommen normal geworden oder entwickelten wenigstens zahlreiche normale neben abweichenden Blüten. Für die übrigen Pflanzen war die Beobachtung der Mutanten dieses Versuchs offensichtlich nicht oft genug erfolgt

(da ursprünglich nicht die Absicht bestand, die Mosaiktypen besonders zu berücksichtigen), um alle Stadien des Rückmutierens, insbesondere auch das normale, zu erfassen. Eindeutig abweichend vom phänischen Verhalten der meisten Mosaiktypen war nur eine Pflanze, 40 M 40034/2, die trotz eingehender Beobachtung während zweier Vegetationsperioden nie normale Blüten zeigte. Es konnte allerdings gegen Ende der zweiten Vegetationsperiode, als die Pflanze leider einging, ein langsames Überwiegen der normalen Areale festgestellt werden. Möglicherweise war hier nur die Geschwindigkeit des Rückmutierens zu normal geringer als bei den anderen Pflanzen.

Um diese Einzelbeobachtungen auf eine sicherere Basis zu stellen, wurden schließlich sämtliche Mosaikpflanzen aus der Nachkommenschaft des „*uni-comp-pal*^{tin}-Div-Versuches“ während der Dauer einer Vegetationsperiode in Abständen von etwa 4 Wochen beobachtet und eine Beschreibung des Phäns protokollarisch festgehalten. Es konnte eine Tendenz zur zeitlichen Aufeinanderfolge von Blüten folgenden Aussehens beobachtet werden:

1. Blüten mit den durch die abweichenden Allele von allen vier untersuchten Loci bestimmten Merkmalen (vgl. Abb. 3, 1. Blüte von links).
2. Blüten mit Fleckung zwischen für alle vier Merkmale abweichenden und normalen Arealen, mit Vorwiegen der abweichenden Areale (vgl. Abb. 3, 2. Blüte von links).
3. Blüten mit ungefähr gleich großen Arealen für „abweichend-für-alle-vier-Merkmale“ und für normal (vgl. Abb. 3, 3. Blüte von links).
4. Blüten, bei denen der Anteil der normalen Areale überwiegt (vgl. Abb. 3, 4. Blüte von links).
5. Blüten mit Fleckung zwischen den „Farbmerkmalen“ und normal mit Überwiegen der normal aussehenden Areale (Abb. 6).
6. Blüten mit dem Phän der für die untersuchten Loci Heterozygoten („Normale“).

In Tabelle 1 sind die Daten zusammengestellt, an denen an den einzelnen Pflanzen Blüten mit dem unter 2., 5. und 6. beschriebenen Phän zum erstenmal beobachtet werden konnten.

Außer den Pflanzen 41 M 40528/1 und 41 M 40825/1, die aus Kontrollversuchen mit unbehandelten Pflanzen stammen, wurden die in der Tabelle zusammengefaßten Pflanzen durch Behandlung der Samen oder der Pollen des männlichen Elters mit Röntgenstrahlen erhalten.

In den wenigen Fällen, wo bereits die erste Beobachtung der Pflanze auf Blüten stieß, die nur Mosaik zwischen den die Farbe betreffenden Merkmalen zeigten, konnte angenommen werden, daß sie zu spät einsetzte, um das Stadium mit Mosaik für alle vier Merkmale noch zu erfassen. Dort, wo nie normale Blüten beobachtet werden konnten,

Tabelle 1. Beobachtungen über das erste Auftreten von phänisch verschiedenen Blüten an den Mosaikpflanzen im „*uni-comp-pal^{tin}*“-Versuch“. Näheres im Text.

Pflanze Nr.	Mosaik für Merkmale der normalen und der abweichenden Allele <i>aller</i> untersuchten Loci	Mosaik für Merkmale der normalen und der abweichenden Allele der nur die <i>Blütenfarbe</i> betreffenden untersuchten Loci	Phän-normale Blüten	Bemerkung
41 M 40005/1	—	4. 7. 41	3. 9. 41	Blüten am 15. 8. 41 schon sehr „normal-ähnlich“
41 M 40010/1	—	5. 8. 41	5. 8. 41	
41 M 40016/1	4. 7. 41	15. 8. 41	15. 8. 41	
41 M 40023/1	4. 7. 41	15. 8. 41	—	
41 M 40036/2	—	10. 7. 41	—	Blüten am 15. 8. 41 außerdem mit Formstörungen, die nicht auf <i>comp</i> und <i>Div</i> zurückgehen
41 M 40076/2	9. 7. 41	20. 10. 41	3. 9. 41	
41 M 40082/2	9. 7. 41	15. 8. 41	—	
41 M 40098/1	4. 7. 41	15. 8. 41	15. 8. 41	
41 M 40186/1	10. 7. 41	—	20. 10. 41	Formstörungen am 10. 7. 41 nicht ganz sicher festzustellen
41 M 40208/1	—	4. 7. 41	22. 7. 41	
41 M 40291/1	10. 7. 41	15. 8. 41	—	
41 M 40318/2	3. 7. 41	—	3. 9. 41	
41 M 40329/1	—	2. 7. 41	2. 7. 41	
41 M 40375/1	4. 7. 41	—	—	
41 M 40376/1	—	4. 7. 41	4. 7. 41	
41 M 40494/1	4. 7. 41	5. 8. 41	5. 8. 41	
41 M 40528/1	25. 8. 41	—	—	
41 M 40573/1	—	4. 7. 41	3. 9. 41	
41 M 40606/1	—	10. 7. 41	—	
41 M 40670/1	10. 7. 41	—	16. 8. 41	
41 M 40676/1	10. 7. 41	5. 8. 41	3. 9. 41	
41 M 40769/1	10. 7. 41	3. 9. 41	5. 8. 41	
41 M 40825/1	9. 7. 41	—	6. 8. 41	
41 M 40896/1	11. 7. 41	—	16. 8. 41	
41 M 41088/1	10. 7. 41	6. 8. 41	18. 8. 41	
41 M 41154/1	10. 7. 41	—	25. 8. 41	
41 M 41187/1	10. 7. 41	6. 8. 41	—	
41 M 41236/1	10. 7. 41	—	—	
41 M 41303/1	10. 7. 41	—	6. 8. 41	
41 M 41336/1	6. 8. 41	—	18. 8. 41	
41 M 41340/1	—	21. 7. 41	—	
41 M 41501/1	21. 7. 41	—	4. 9. 41	
41 M 41688/2	17. 7. 41	—	—	
41 M 41708/1	—	10. 7. 41	—	
41 M 41761/1	20. 10. 41	21. 7. 41	—	
41 M 41891/1	17. 7. 41	—	—	
41 M 41924/1	16. 7. 41	18. 8. 41	18. 8. 41	
41 M 41930/1	15. 7. 41	18. 8. 41	—	

reichte wahrscheinlich die Dauer einer Vegetationsperiode nicht aus, um dieses „Entwicklungsziel“ zu erreichen. Es konnte jedoch in einer großen Anzahl von Fällen die geschilderte zeitliche Aufeinanderfolge der Mosaiktypen einschließlich des Auftretens der normalen Blüten beobachtet werden, so daß hierin eine Gesetzmäßigkeit erblickt werden kann. Natürlich ist diese zeitliche Aufeinanderfolge, wie bereits oben betont, nur als „Tendenz“ mit dem Ziel der phänisch normalen Pflanze aufzufassen. Sie braucht nicht auszuschließen, daß Blüten der verschiedenen Typen gleichzeitig an derselben Pflanze beobachtet werden können, oder daß man noch Mosaikblüten antrifft, nachdem man bereits vorher normale Blüten festgestellt hatte. So bildete z. B. die Pflanze 41 M 41 761/1 (Tabelle 1) noch einmal Blüten mit Mosaik für alle vier Merkmale aus, nachdem bereits ausschließlich Blüten mit „Farbmerkmalsmosaik“ beobachtet worden waren. In zahlreichen Fällen traten normale Blüten gleichzeitig mit Mosaikblüten aller Stadien auf. Aber das Ende der Entwicklung stellten phän-normale Pflanzen dar.

B. Cytologische Untersuchung.

Die cytologische Untersuchung wurde an einigen der in Tabelle 1 aufgeführten Pflanzen aus dem „*uni-comp-pal^{tin}-Div*-Versuch“ sowie an Pflanzen aus dem „*uni-dich-Div-serp*-Versuch“ ausgeführt. Der Untersuchung lag die Absicht zugrunde, nachzuweisen, ob diesem Phän, das nicht nur dadurch auffiel, daß es die durch die abweichenden Allele mehrerer der untersuchten Loci bestimmten Merkmale aufwies, sondern auch durch das eigenartige Verhalten der Pflanzen im Laufe ihrer somatischen Entwicklung, eine bestimmte chromosomale Abweichung entsprach. Bereits in Teil I der vorliegenden Arbeit war ausgeführt worden, daß der Nachweis einer Chromosomenmutation in Pachytänkernen an die Voraussetzung einer günstigen Lage der Chromosomen gebunden ist, und daß diese nicht allzu häufig gegeben ist. Bei den Mosaikpflanzen

40 M 40034/2	} aus dem „ <i>uni-dich-Div-serp</i> -Versuch“
40 M 40470/1	
40 M 41 087/1	
40 M 41 146/2	
40 M 41 321/1	
41 M 40016/1	} aus dem „ <i>uni-comp-pal^{tin}-Div</i> -Versuch“
41 M 40098/1	
41 M 40573/1	
41 M 40676/1	
41 M 41 303/1	

ist es gelungen, eine heterozygote reziproke Translokation im Pachytän nachzuweisen. Bei den übrigen Mosaikpflanzen ist dies vorläufig noch nicht möglich gewesen, doch liegen keine Beobachtungen vor, die bei diesen Pflanzen das Fehlen einer solchen reziproken Translokation wahrscheinlich machen würde.

In der Pflanze 41 M 40082/2 konnte in der Metaphase ein Quadrivalent nachgewiesen werden, ähnlich dem bereits in Trennung befindlichen Quadrivalent der in Abb. 7 dargestellten Anaphase der Pflanze 40 M 40470/1. Es ist deshalb anzunehmen, daß auch die Pflanze 41 M 40082/2 eine reziproke Translokation führt. Die Pflanzen 40 M 41087/1 und 40 M 41146/2 sind im phänormalen Zustand fixiert und präpariert worden. *Es ließ sich auch in diesem Zustand die Translokation in den Pachytänkernen nachweisen.*

Eine heterozygote Translokation verrät sich im Pachytän durch das eigenartige Verhalten der an der Translokation beteiligten Chromosomen bei der Paarung mit ihren normalen Homologen. Es entsteht, jedenfalls in den „klassischen“ Fällen, die bekannte kreuzförmige Paarungsfigur, die namentlich dann, wenn ein Studium des Verlaufes der Chromonemen bei nicht zu enger Paarung im Mittelpunkt des Kreuzes möglich ist, in ihrer Eindeutigkeit mit keiner anderen Konfiguration verwechselt werden kann (Abb. 8). ERNST hat bereits 1938 und 1939 solche Translokationsverbände in Pachytänkernen aus der Meiosis der PMZ von *Antirrhinum majus* abgebildet. Durch die cytologischen Untersuchungen bei Mais ist bekannt geworden, daß nur in einer bestimmten Anzahl von Fällen, die Paarung in diesen Translokationsverbänden homolog verläuft und somit aus der Lage des „Kreuzes“ in den Chromosomen auf die Lage der Brüche rückgeschlossen werden kann. Vielmehr liegt oft in Pachytänkernen der gleichen Pflanze die „Kreuz“-Stelle an verschiedenen Stellen des Chromosoms, die Paarung muß also inhomolog verlaufen sein und ein direkter Rückschluß von der Lage des Mittelpunktes des Paarungskreuzes auf die Lage der Brüche ist nicht möglich. Zwar konnte ich bei den Translokationsverbänden bei *Antirrhinum* diese Art von inhomologer Paarung in den von mir beobachteten Fällen nicht mit absoluter Sicherheit feststellen. Dazu wären, da wegen der geringen morphologischen Differenzierung der Chromosomen Inhomologien nur in seltenen Fällen direkt beobachtet werden können, Längenmessungen nötig gewesen. Daß jedoch auch bei *Antirrhinum* in Translokationspaarungsverbänden inhomologe Paarung auftritt, konnte aus zahlreichen Kernen erschlossen werden, in denen reziprok translozierte Chromosomen bei der Paarung mit ihren normalen Homologen eine H-Figur bildeten. Ein Beispiel hierfür ist in Abb. 9 dargestellt. Diese H-Figur, von BURNHAM (1932) zuerst bei Mais beobachtet, ist später von MCCLINTOCK studiert und auch abgebildet worden (1933, Fig. 48). Auch in meinem Material trat dieser Paarungsverband nicht ausnahmsweise, sondern in recht zahlreichen Fällen auf. Die Längenverhältnisse der an der Translokation beteiligten Chromosomen erfordern, jedenfalls wenn die Chromonemata sich an ihren Enden homolog paaren, bei diesem Paarungsverband eine Kompensationsschlinge in dem einen Arm (vgl. dazu BURNHAM 1932). Von MCCLINTOCK ist die Kompensationsschlinge in

dem in Fig. 48 (l.c.) abgebildeten H-förmigen Translokationsverband auch beobachtet worden. In den von mir untersuchten Kernen konnte diese Schlinge selbst in den Fällen nicht festgestellt werden, wo der Paarungsverband in seiner ganzen oder fast in seiner ganzen Länge verfolgbar war. Der in Abb. 10 abgebildete Kern zeigt zwar einen fünfstrahligen „gestörten“ Paarungsverband, und man könnte geneigt sein, einen der Arme für die in sich selbst gepaarte gesuchte Schlinge zu halten. Dagegen spricht jedoch die Tatsache, daß diese fünf Arme auch in völlig „ungestört“ wirkenden Translokationsverbänden in anderen Kernen derselben Pflanze aufgefunden werden konnten, wie in Abb. 11 dargestellt. Eine Erklärung für diese eigenartige Konfiguration ergibt sich nur aus der Annahme, daß in dem einen Partner außer der reziproken Translokation noch eine interkalare Deletion stattgefunden hat. Vier der Arme stellen die Balken des „Translokationskreuzes“, der fünfte das „fold-back“ im homologen normalen Chromosomenabschnitt dar, das die durch den Stückverlust im mutierten Chromosom überschüssige Länge kompensiert.

Schon daraus, daß diese Kompensationsschlinge nie beobachtet werden konnte, mußte geschlossen werden, daß es noch eine andere Möglichkeit zur Kompensation des überschüssigen Stückes geben mußte. Abb. 12 zeigt einen Teil eines Bivalents, in dem ein überschüssiges Stück in dem einen Chromosom sich durch kleine Wellen dem anderen, kürzeren, das gestreckt geblieben ist, in der Länge angleicht. Die Paarung am äußersten Ende dieses Chromosomenabschnittes ist ausgesprochen homolog. In dem abgebildeten Kern ist zwar der Zusammenhang dieses Chromosomenstückes mit dem Translokationssystem dieser Pflanze (s. Abb. 13 und 14) nicht zu erkennen, doch ist anzunehmen, daß dieses Paarungsverhalten auf die im Kern vorliegende Störung zurückzuführen ist. Es sind zwei Deutungen für diese Konfiguration möglich. Sie kann dadurch entstanden sein, daß 1. die ganze „unebene“ Zone ungepaart ist und die Stränge nur zufällig nebeneinander liegen, anstatt durch einen breiten Zwischenraum getrennt zu sein, wie es in ungepaarten Abschnitten üblich ist. Es könnte sich 2. um eine „echte“ Paarung, im Sinne der Paarung zwischen homologen, gleichlangen Abschnitten handeln. Diese wäre jedoch nur unter der Annahme zu verstehen, daß die Paarung an vielen, wenig voneinander entfernten Orten zur gleichen Zeit, und zwar inhomolog einsetzte. Mit der von RHOADES und MCCLINTOCK (1935) abgeleiteten Tendenz zur geradlinigen Fortsetzung einer einmal begonnenen Paarung läßt sich diese Deutung nicht vereinbaren.

Systematische Untersuchungen zur Frage nach den *Translokationspartnern* begegnen den gleichen Schwierigkeiten wie sie in Teil I der vorliegenden Arbeit bereits für das gleichzeitige Erkennen einer Chromosomenmutation und der für das betreffende Chromosom charakteristischen Merkmale auseinandergesetzt sind. Dennoch lassen sich auf Grund

einiger Einzelbeobachtungen hierüber Aussagen machen. Die Beteiligung der rezessiven Allele der im *uni*-Chromosom liegenden Loci am Phän der Pflanzen macht es von vornherein wahrscheinlich, daß das 2. Chromosom den einen Partner darstellt (I. Teil dieser Arbeit). Es konnte auch in einzelnen Fällen als Translokationspartner ermittelt werden. Die Abb. 8, 9, 13 und 14 zeigen Kerne, in denen das 2. Chromosom als an dem Verband beteiligt erkannt werden konnte. Als Partner des 2. Chromosoms kommt wahrscheinlich nicht immer dasselbe Chromosom, sondern in verschiedenen Pflanzen verschiedene Chromosomen in Frage. Mit großer Eindeutigkeit konnte in einigen Pflanzen das 4. Chromosom als Partner erkannt werden. In einem Falle hatte es einen eigenen Nukleolus kondensiert, lag in dem zum Nukleolus gehörigen Arm vollkommen frei und konnte durch das Fehlen von dem Endchromomer folgenden Chromomeren vom 3. Chromosom unterschieden werden. In Pachytänkernen anderer Pflanzen jedoch, in denen eine reziproke Translokation bereits nachgewiesen war, konnte das 4. Chromosom über seine ganze Länge verfolgt werden, ohne daß eine sichtbare Mutation festzustellen gewesen wäre. Es kam in diesen Pflanzen also als Partner für den Stückaustausch nicht in Frage.

Zu diesem Befund ist jedoch hinzuzufügen, daß das dritte und vierte Chromosom nicht ganz leicht voneinander zu unterscheiden sind (s. auch RESENDE 1940) und Aussagen über eine Identifizierung dieser Chromosomen nur mit größter Vorsicht gemacht werden können.

Die Pflanze 40 M 41146/2 enthielt ein Translokationssystem, in das mindestens 4 Chromosomen einbezogen waren (Abb. 13 und 14), von denen das 2., 4. und 7. Chromosom erkannt werden konnte. Das vierte am Austausch beteiligte Chromosom ließ sich nicht identifizieren. Dem Austausch zwischen diesen 4 Chromosomen entsprechen die drei in Abb. 14 sichtbaren „Kreuz“- oder „H“-Stellen. Jedoch scheinen damit die Störungsvorgänge im Kern noch nicht erschöpft zu sein, wie aus dem außer den 3 Translokationskreuzen vorliegenden Verband in Abb. 13 hervorgeht, der aber in seiner Bedeutung im Zusammenhang mit dem Translokationssystem nicht geklärt werden konnte. Wie bereits erwähnt, sind die Knospen dieser Pflanze fixiert worden, als sie bereits phänisch völlig normal aussah.

Bei einem Stückaustausch zwischen zwei Chromosomen können zwei neue Chromosomen mit je einer Spindelfaser-Ansatzstelle entstehen oder es kann ein bicentrisches und ein acentrisches Stück gebildet werden. Im letzteren Falle verhindern die Schwierigkeiten bei den Zellteilungen, daß die Translokation sich ungestört so erhält, wie sie stattgefunden hat. Vielmehr werden fortgesetzte Brüche im bicentrischen Chromosom während der Anaphase, Wiederverklebungen der Bruchstücke und Elimination der acentrischen Stücke zu einem bunten Mosaik von Zellen verschiedener Konstitution führen, wenn nicht ein großer Teil der

Abkömmlinge solcher Zellen überhaupt wegen Unerträglichkeit der Störungen ausfällt. In den PMZ der untersuchten Pflanzen konnten die heterozygoten Translokationen mit Regelmäßigkeit beobachtet werden, dagegen keine Störungen, die als durch das Auftreten eines bicentrischen Chromosoms bedingte Sekundärscheinung gedeutet werden mußten. Deshalb ist anzunehmen, daß der erste Fall, Entstehung zweier Chromosomen mit je einer Spindelfaser-Ansatzstelle, in den Mosaikpflanzen verwirklicht war. Solche Translokationen, die zu zwei monocentrischen Chromosomen führen, gehen unverändert in die Tochterzellen über, der Chromosomenbestand solcher Pflanzen muß im somatischen Gewebe für alle Zellen gleich sein. Rückschlüsse auf die Lage der Brüche, die zu den Translokationen geführt haben, lassen sich jedoch aus dieser Tatsache nicht ziehen, insbesondere läßt sich nicht behaupten, daß die Brüche, die in den verschiedenen Mosaikpflanzen zu Translokationen geführt haben, etwa in den einzelnen Pflanzen an derselben Stelle des 2. Chromosoms stattgefunden haben.

C. Diskussion.

Zusammenfassend läßt sich über den zur Diskussion stehenden Tatbestand Folgendes sagen: *Antirrhinum*-Pflanzen einer F_1 , die heterozygot für die im 2. Chromosom liegenden Loci *uni*, *dich*, *Div*, *serp* in dem einen Versuch und *uni*, *comp*, *pal*, *Div* in dem anderen Versuch waren, zeigten phänisch ein Mosaik zwischen den „abweichenden“ und den „normalen“ Merkmalen. Im Laufe der somatischen Entwicklung wurden die abweichenden Merkmale immer stärker zurückgedrängt, und es traten immer mehr die normalen Merkmale in Erscheinung. Durch Pachytänanalyse konnte in solchen Pflanzen eine heterozygote reziproke Translokation zwischen dem 2. Chromosom (das die untersuchten Loci trug) und wahrscheinlich wechselnden Partnern festgestellt werden, und zwar sowohl in phänisch mosaikartigen als auch in phän-normalen Pflanzen.

Die Ausbildung von Mosaikindividuen auf Grund von Chromosomenmutationen ist bei genetisch gut durchgearbeiteten Objekten schon oft beobachtet worden. In den meisten Fällen handelte es sich darum, daß im Laufe der somatischen Entwicklung Chromosomenstücke eliminiert wurden, die die dominanten Allele von Loci enthielten, für die das Individuum heterozygot war. So entstanden die *Drosophila*-Tiere PATTERSON⁸ (1932) auf Grund einer instabilen $X \rightarrow IV$ -Translokation, die häufig in der Mitose zum Verlust des von X translozierten Stückes führte. Die *Bm₁-bm₁*-Mosaikpflanzen MCCLINTOCKS (1938) hatten den stellenweisen Verlust des Chromosomenstückes zur Ursache, in dem sich das dominante Allel des Locus *Bm₁* befand. Es ging in einigen Zellen aus einem Chromosomenring verloren, der zu einer ungestörten Mitose unfähig war. In diesen Fällen entsprach dem phänischen Mosaik ein genotypisches.

Es ist offenbar abwegig, in den von mir untersuchten Pflanzen einen ähnlichen Vorgang auf Grund der in ihnen festgestellten Translokationen zu suchen. Wie im cytologischen Teil ausgeführt, hatte der reziproke Stückaustausch zu zwei neuen Chromosomen geführt, von denen man annehmen muß, daß jedes nur ein Centromer besitzt, so daß sie eine ungestörte Mitose ausführen können. Dem *phänischen* Mosaik kann also in den von mir untersuchten Pflanzen kein *genotypisches* entsprochen haben. Es bietet sich ferner keine Möglichkeit, unter der Annahme eines stellenweisen Stückverlustes in den somatischen Zellen zu erklären, wie die Pflanzen wieder phänisch normal werden konnten.

Mehr Wahrscheinlichkeit hat die Deutung für sich, daß die in den mutierten Chromosomen gelegenen Standardallele auf Grund der Umlagerung eine instabile Inaktivierung erlitten haben. Im Laufe der somatischen Entwicklung gewinnen die Standardallele in verschiedenen Zellen ihre Aktivität mit ungleicher Geschwindigkeit wieder. Im Phän muß sich das als ein Mosaik zwischen den abweichenden und den normalen Merkmalen äußern. Wenn schließlich in allen Zellen die normalen Allele ihre Aktivität wiedererlangt haben, sehen die Pflanzen phän-normal aus.

Fälle der Dominanzabschwächung oder des -verlustes eines Allels durch Verlagerung auf Grund einer Chromosomenmutation sind bei *Drosophila* u. a. durch DUBININ und SIDOROV (1934 und 1935) für die Loci *ci* (*cubitus interruptus*) und *h* (*hairy*) und zuletzt durch DEMEREC (1940) für eine Reihe von im X-Chromosom liegenden Loci bekannt geworden. Die von SIDOROV und DUBININ untersuchten Fälle unterscheiden sich von dem bei DEMEREC vorliegenden dadurch, daß im ersteren Falle die Dominanzabschwächung konstant war, und sich in allen somatischen Zellen des untersuchten Gewebes unverändert erhielt. Das Phän der untersuchten Tiere war deshalb einheitlich, während die Fliegen DEMERECs die durch die Standardallele und die durch die abweichenden Allele bestimmten Merkmale in mosaikartiger Verteilung zeigten. Zur Erklärung nimmt DEMEREC an, daß die durch eine Transposition in ein anderes Milieu versetzten Wildallele ihre Wirksamkeit zunächst teilweise oder vollkommen verlieren, allmählich aber im Laufe wiederholter Mitosen wiedergewinnen. Folgende Voraussetzungen leitet DEMEREC für das Auftreten seiner Mosaiktypen auf Grund einer Stückverlagerung ab:

1. Die Einlagerung muß in heterochromatische Stücke stattgefunden haben.
2. Nur bestimmte heterochromatische Bezirke sind imstande, Dominanzverlust oder -abschwächung in den in sie eingelagerten fremden Chromosomenstücken zu bewirken.
3. Vom Dominanzverlust werden in der Regel nur die Loci betroffen, die den Brüchen benachbart oder (in wenigen Fällen) nicht allzu weit von ihnen entfernt sind.

Ein Vergleich meiner Feststellungen mit den Ergebnissen DEMERECs wird dadurch erschwert, daß über die Lage der Brüche in den Austauschpartnern nichts und über den Partner des 2. Chromosoms nur sehr wenig bekannt ist. Jedoch läßt sich an Hand des vorliegenden Tatsachenmaterials bereits aussagen, daß die Analogie der Vorgänge in den von DEMEREC untersuchten Fällen und in den von mir untersuchten Pflanzen nicht vollkommen ist, so sehr sie es auch im ersten Augenblick zu sein scheint. Weder kann angenommen werden, daß

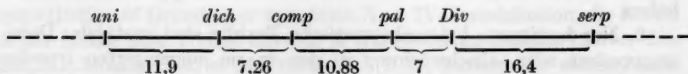
1. stets der gleiche Partner für das 2. Chromosom in die reziproke Translokation einbezogen war (s. cytologischer Teil), noch daß

2. die Brüche in diesen Partnern lage-identisch waren, die vom 2. Chromosom translozierten Stücke also durch die Stückumlagerung immer in das gleiche genetische Milieu versetzt wurden.

Auch daß nur die den Brüchen direkt benachbarten Standardallele der untersuchten Loci vom Wirkungsverlust betroffen wurden, ließ sich an meinen Pflanzen nicht feststellen. Es lagen zuviel Fälle vor, in denen eindeutig mehr als die Allele der untersuchten zwei Loci, die im günstigsten Falle dem Bruche „benachbart“ sein konnten, an der Ausbildung des Mosaiks beteiligt waren.

Es muß daher angenommen werden, daß der instabile Wirkungsverlust der Standardallele der untersuchten Loci entweder durch die Änderung der Nachbarschaft der Loci im Chromosom als solcher ohne Rücksicht auf deren Beschaffenheit stattgefunden hat oder aber durch eine durch den Bruch erfolgte Störung im Chromosom. In beiden Fällen muß der „Wirkungsbereich“ des die Wirkung der normalen Allele aufhebenden Faktors weit über den Ort seiner Entstehung hinausreichen.

Die von KUCKUCK (1938) auf Grund von Koppelungsversuchen veröffentlichte Genkarte des *uni*-Chromosoms kann zwar nach den Erfahrungen an Genkartierungen auf cytologischem Wege bei *Drosophila* und Mais nicht als abstandsgetreue Abbildung des Chromosoms gelten. Zweifellos läßt sich aber aus ihr entnehmen, daß die in den vorliegenden Untersuchungen benutzten Loci nicht gerade dicht benachbart sein können. KUCKUCK zeichnet auf seiner Genkarte folgende Abstände der für die vorliegende Untersuchung in Frage kommenden Loci in Austauschseinheiten ein:



Daß die am Mosaik beteiligten, die Blütenform betreffenden Merkmale schneller verschwanden als die die Farbe betreffenden, kann zweierlei Gründe haben. Es kann daranliegen, daß die Rückgewinnung der

Wirkung der verschiedenen Standardallele mit verschiedener Geschwindigkeit vor sich ging. Es kann aber auch einen rein ontogenetischen Grund haben in dem Sinne, daß die Zellen, die von einem Wirkungsverlust der die Form bestimmenden Allele betroffen wurden, sich phänisch bereits nicht mehr auswirkten, wenn ihre Zahl unter ein gewisses Minimum gesunken war, während Areale von wenigen Zellen, die in bezug auf die Farbe abweichend waren, mit dem bloßen Auge noch festgestellt werden konnten. Für die „Formmerkmale“ wirkt die Pflanze also bereits phänisch normal, während sie es genotypisch durchaus noch nicht ist. Für die „Farbmerkmale“ tritt ein phän-normaler Eindruck erst dann auf, wenn genotypisch der normale Zustand erreicht ist. Die zweite Annahme ist die wahrscheinlichere.

Zusammenfassung.

1. Es werden Pflanzen aus einer F_1 von *Antirrhinum* beschrieben, in der die genetische Konstitution

$$\begin{array}{ccc} \text{uni} \text{ dich} & \text{Div} \text{ serp} & \\ \text{uni}^+ & \text{dich}^+ & \text{Div}^+ \text{ serp}^+ \end{array} \quad \text{bzw.} \quad \begin{array}{ccc} \text{uni} \text{ comp} & \text{pal}^{\text{din}} & \text{Div} \\ \text{uni}^+ & \text{comp}^+ & \text{pal}^+ \text{ Div}^+ \end{array}$$

zu erwarten gewesen ist. Die beschriebenen Pflanzen zeigten die durch die normalen und die abweichenden Allele der im *uni*-Chromosom liegenden untersuchten Loci bewirkten Merkmale in mosaikartigem Nebeneinander. Im Laufe der somatischen Entwicklung wurden die Pflanzen normal.

2. Die cytologische Analyse solcher Pflanzen erbrachte den Nachweis einer heterozygoten Translokation. In den Fällen, in denen eine Identifizierung möglich war, konnte das 2. (*uni*-)Chromosom als Translokationspartner festgestellt werden, während der zweite Translokationspartner offenbar wechseln kann.* Es ist anzunehmen, daß eine Translokation, an der das zweite Chromosom beteiligt ist, die Ursache für die beobachtete Mosaikausbildung darstellt.

3. Der zuerst von BURNHAM (1932) an Mais beobachtete H-förmige Paarungsverband eines Translokationssystemes kann auch bei *Antirrhinum* auftreten. Die „Kompensationsschlinge“ scheint nicht obligatorisch zu sein. Vielmehr wird die Möglichkeit einer Paarung ungleich langer Stücke erörtert und belegt.

4. In der Diskussion wird wahrscheinlich gemacht, daß die Mosaikausbildung die Folge eines durch die Translokation bewirkten instabilen Wirkungsverlustes der normalen Allele der untersuchten Loci ist, die im Laufe der somatischen Entwicklung in verschiedenen Zellen ihre Wirkung mit verschiedener Geschwindigkeit wiedergewinnen.



a b c d
Abb. 1.



a b c d
Abb. 2.



a b c d
Abb. 3.



a b c d
Abb. 4.



Abb. 5.



a



b

Abb. 6.

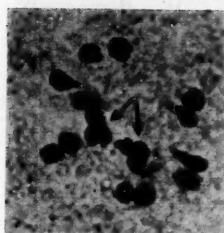


Abb. 7.

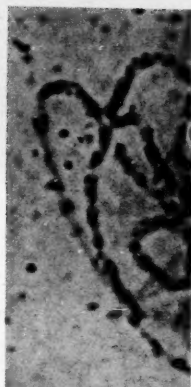
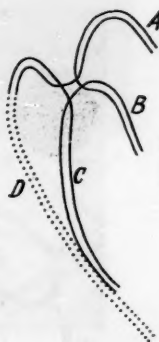


Abb. 8.



a



b

Abb. 9.

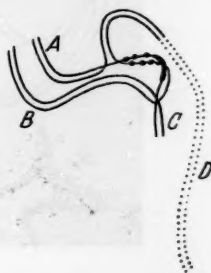




Abb. 10.

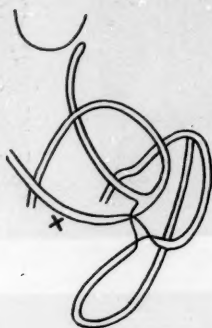


Abb. 11.

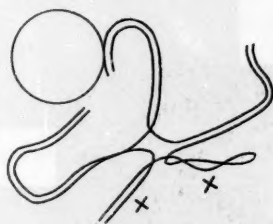


Abb. 12.



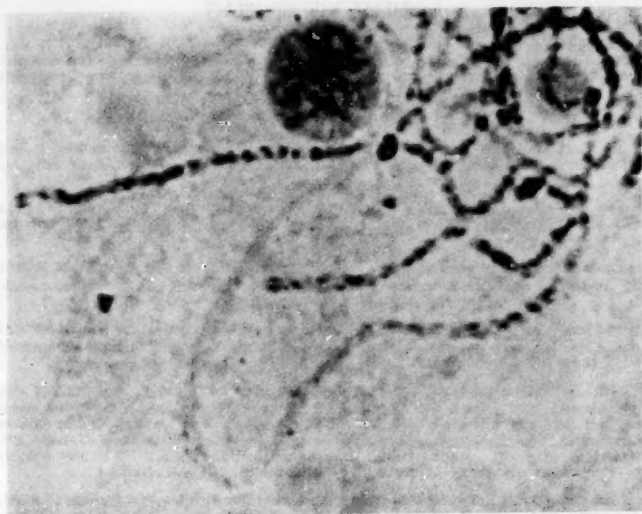
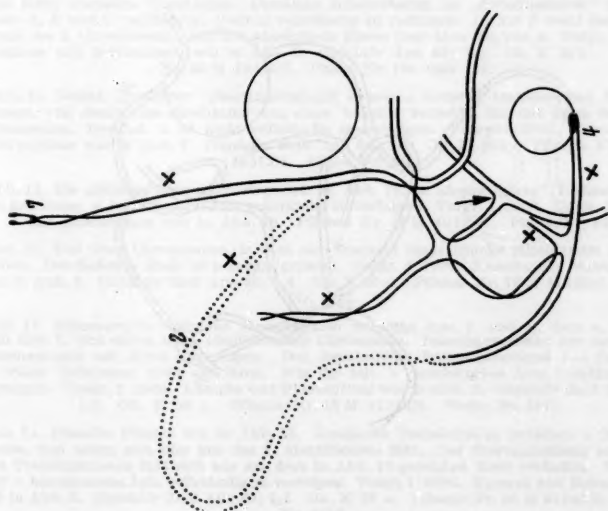


Abb. 13.



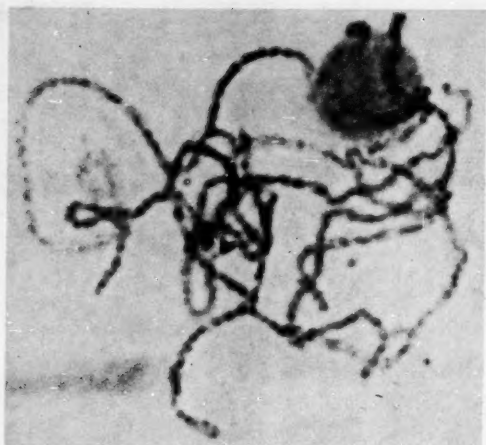
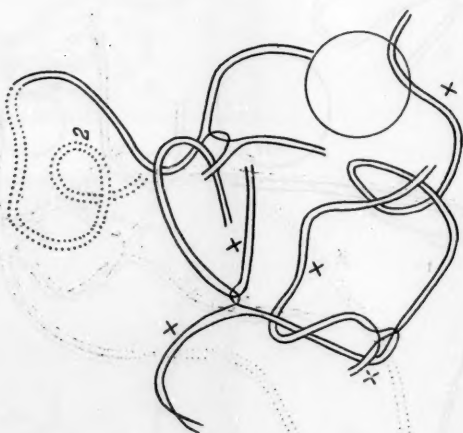


Abb. 14.



Erklärung der Abbildungen.

Abb. 1. Blüten einer Pflanze mit mosaikartiger Ausprägung der durch die Loci *uni*, *dich*, *Die* und *serp* bestimmten Merkmale. a Blüte von der Seite, b von unten, die Unterlippe abgerissen, c von oben, die Oberlippe abgerissen, d von vorn. Natürliche Größe. Pflanze Nr. 40 M 41909/1. Photo Nr. 97.

Abb. 2. Wie in Abb. 1. Pflanze Nr. 40 M 40034/2. Photo Nr. 98.

Abb. 3. Blüten einer Pflanze mit mosaikartiger Ausprägung der durch die Loci *uni*, *comp*, *pal*, *Die* bestimmten Merkmale. Alle Blüten von unten. Natürliche Größe. Pflanze Nr. 41 M 40098/1. Photo Nr. 1735.

Abb. 4. Blüten einer Pflanze mit mosaikartiger Ausprägung der durch die Loci *uni*, *comp*, *pal* und *Die* bestimmten Merkmale. Sonst wie in Abb. 1. Pflanze Nr. 41 M 40208/1. Photo Nr. 1729.

Abb. 5. Blüte einer Pflanze mit mosaikartiger Ausprägung der durch die Loci *uni* und *pal* bestimmten Merkmale. Aus dem *uni-comp-pal^{fin}*-Die-Versuch. Schräg von oben. Natürliche Größe. Pflanze Nr. 41 M 40494/1. Photo Nr. 1732.

Abb. 6. Blüten einer Pflanze mit mosaikartiger Ausprägung der durch den Locus *uni* bestimmten Merkmale. Aus dem *uni-comp-pal^{fin}*-Die-Versuch. a von oben, b von der Seite. Natürliche Größe. Pflanze Nr. 41 M 40376/1. Photo Nr. 1731.

Abb. 7. Anaphase in der PMZ einer Mosaikpflanze (dieselbe wie in Abb. 9). Die Pfeile weisen auf ein Quadrivalent, das eben die Trennung vollzogen hat. Es geht auf eine heterozygote reziproke Translokation zurück, bei der zwei neue Chromosomen mit je einer SFA entstanden sind. Vergr. 1:2000. Große mikrophotographische Apparatur von Zeiß mit 500 W/220 V Osram-Punktlichtlampe und Lift-Grünfilter. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 20x. Pflanze Nr. 40 M 40470/1. Photo Nr. 169.

Abb. 8. Paarungsverband reziprok translozierter Chromosomen mit ihren normalen Homologen. Nur Ast A ist bis zu einem Ende verfolgbar. Vergr. 1:3000. Zeiß Ultraphot mit 12 V/8 A Niedervolt-Glühlampe und Trichromfiltersatz. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 30x. Pflanze Nr. 40 M 41146/2. Photo Nr. 1821.

Abb. 9. H-förmiger „gestörter“ Paarungsverband reziprok translozierter Chromosomen mit ihren normalen Homologen. Deutliche Inhomologien im „Zwischenstück“ (b). Die Äste A, B und C vollständig, D nicht vollständig zu verfolgen. In Ast D wohl das diffuse Ende des 2. Chromosoms. Die in b abgebildete Ebene liegt über der von a. Vergr. 1:3000. Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 7. Objektiv Apo 60; 1,4. Ok. K 30x. Pflanze Nr. 40 M 40470/1. Photo Nr. 109 und 108.

Abb. 10. Leicht „gestörter“ Paarungsverband zwischen reziprok translozierten Chromosomen, von denen eins gleichzeitig von einer Deletion betroffen ist, mit ihren normalen Homologen. Der Ast x ist nicht vollständig zu verfolgen. Vergr. 1:3000. Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 7. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 20x. Pflanze Nr. 41 M 40573/1. Photo Nr. 136.

Abb. 11. Die gleichen Paarungspartner wie in Abb. 10, in „ungestörtem“ Verband. Nur die mit einem x bezeichneten Äste vollständig zu verfolgen. Vergr. 1:3000. Optik, Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 10. Pflanze Nr. 41 M 40573/1. Photo Nr. 142.

Abb. 12. Teil eines Chromosoms, in dem sich ungleich lange Stücke miteinander gepaart haben. Das äußerste Ende ist homolog gepaart. Vergr. 1:3000. Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 8. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 30x. Pflanze Nr. 40 M 41146/2. Photo Nr. 1823.

Abb. 13. Heterozygote reziproke Translokation zwischen dem 2. und 4., dem 4. und 7. und dem 7. und einem nicht identifizierten Chromosom. Paarungsverband der mutierten Chromosomen mit ihren Homologen. Der dreistrahlige Paarungsverband (→) ließ sich in seiner Bedeutung nicht aufklären. Nur die mit x bezeichneten Äste vollständig zu verfolgen. Vergr. 1:3000. Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 8. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 30x. Pflanze Nr. 40 M 41146/2. Photo Nr. 1817.

Abb. 14. Dieselbe Pflanze wie in Abb. 13. Reziproke Translokation zwischen 4 Chromosomen, von denen sich hier nur das 2. identifizieren läßt. Der Zusammenhang zwischen den Translokationen läßt sich nur aus dem in Abb. 13 gezeigten Kern schließen. Nur die mit x bezeichneten Äste vollständig zu verfolgen. Vergr. 1:3000. Kamera und Beleuchtung wie in Abb. 8. Objektiv Zeiß Apo 60; 1,4. Ok. K 30x. Pflanze Nr. 40 M 41146/2. Photo Nr. 1819.

Literaturverzeichnis.

- Burnham, C. R.: The association of non-homologous parts in a chromosomal interchange in maize. Proc. 6th Intern. Congr. Genetics 2, 19—20 (1932). — Dubinin, N. P. and B. Sidorov: Relation between the effect of the gene and its position in the system. Biol. Žurn. 3 (1934)¹. — The position effect of the *Hairy* Gene. Biol. Žurn. 4 (1935)¹. — Demerec, M.: Genetic behavior of euchromatic segments inserted into heterochromatin. Genetics 25, 618—627 (1940). — Ernst, H.: Meiosis und Crossing-over. Zytologische und genetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. Z. Bot. 33, 241—294 (1938). — Kuckuck, H.: Untersuchungen über Koppelungen bei *Antirrhinum majus*. III. Die Genkarte des *Uni*-Chromosoms. Z. Abstammungslehre 75, 24—54 (1938). — McClintock, B.: The association of non-homologous parts of chromosomes in the mid-prophase of meiosis in *Zea mays*. Z. Zellforsch. 19, 191—237 (1933). — The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. Genetics 23, 315—376 (1938). — Patterson, I. T.: A new type of mottled eyed *Drosophila* due to an unstable translocation. Genetics 17, 38—59 (1932). — Pohlendt, G.: Cytologische Untersuchungen an Mutanten von *Antirrhinum majus* L. I. Deletionen im *uni*-Chromosom. Z. Abstammungslehre 80, 281—288 (1942). — Besende, F.: Die Nukleolen bei *Antirrhinum majus* L. Ber. dtsh. bot. Ges. 58, 460—470 (1940). — Rhoades, M. M. and B. McClintock: The cytogenetics of maize. Bot. Rev. 1, 292—325 (1935).

¹ Im Original nicht zugänglich.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

RÖNTGENAUSLÖSUNG VON CHROMOSOMENMUTATIONEN BEI DROSOPHILA MELANOGASTER II.

DIE HÄUFIGKEIT DES PRIMÄREN BRUCHEREIGNISSES NACH UNTERSUCHUNGEN AM RING-X-CHROMOSOM¹.

Von

HANS BAUER.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Oktober 1942.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung	407
II. Die Bestimmung der Bruchhäufigkeit aus der Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses in der F_1	408
A. Gang der Untersuchung	408
B. Versuche mit dem X^+ -Chromosom	410
1. Voraussetzungen	410
2. Ergebnisse	413
C. Versuche mit dem X^c -Chromosom	414
1. Voraussetzungen	414
2. Ergebnisse	419
a) Die Dosisabhängigkeit	419
b) Allgemeine Ableitung der überkrümmten Kurve	421
c) Das Schicksal der Zygoten mit bizentrischen Doppelringen	425
d) Die Bruchhäufigkeit	429
e) Die Bruchhäufigkeit unter abgeänderten Bestrahlungsbedingungen	433
III. Die Entstehung der Chromosomenmutationen im Lichte der neuen Befunde	434
1. Die Dosisabhängigkeit der Mehr-Bruch-Rekombinationen	434
2. Die Dosisabhängigkeit des Einzelbruchs	442
3. Die Natur des primären Bruchereignisses und andere offene Fragen	448
Zusammenfassung	454
Schriftenverzeichnis	456

I. Einleitung.

Die erste Mitteilung (BAUER 1939a) hatte neben anderem die Häufigkeit überlebender Chromosomenmutationen zum Gegenstand und brachte das Ergebnis, daß diese als Mehrtrefferereignisse anzusehen sind. Sie entstehen durch Rekombination zwischen Einzelbrüchen, für die eine direkte Dosisproportionalität anzunehmen war. In der vorliegenden Arbeit soll aus der Untersuchung des quantitativen Auftretens bestimmter zygotisch letaler Chromosomenmutationen das primäre Bruchereignis in seiner Dosisbeziehung näher geklärt werden. Wesentlich für diese

¹ Mit Unterstützung durch den Reichsforschungsrat durchgeführt.

Untersuchung ist die Verwendung des ringförmigen X-Chromosoms in den Experimenten.

Ringchromosomen sind in der letzten Zeit gelegentlich beschrieben worden. Ihr Verhalten ist aber nur in zwei Arbeiten genauer analysiert worden. Bei *Drosophila melanogaster* hat L. V. MORGAN (1933) das erste ringförmige X-Chromosom von einem in attached-X-Kreuzungen aufgetretenen Ausnahme-♀ erhalten und es in seinem *meiotischen Verhalten* eingehend untersucht. Kennzeichnend ist, daß Austauschchromatiden mit ungerader Anzahl von Austauschorten (Einfach-, Dreifachaustausch-Chromatiden) nicht zu erhalten sind. Die Ursache hierfür liegt darin, daß durch solchen ungeradzahligen Austausch die zwei beteiligten Chromatiden — genau wie im Modell der MÖBIUS-Ringe — sich zu einem kontinuierlichen, doppelt so großen Ringchromosom mit zwei Spindelansätzen (hier kurz als bizen trischer Doppelring bezeichnet) vereinigen. Dieses wird in den Reifeteilungen eliminiert, so daß die ♀-Vorkerne nur Nicht-, Zwei- und Vierfachaustausch-Chromatiden erhalten können oder ohne X bleiben. Im letzten Fall treten nach Befruchtung mit X-Spermien sterile patrokline XO-♂♂ auf.

Bei *Zea mays* hat McCLINTOCK (1938) das *mitotische Verhalten* verschiedener Ringchromosomen untersucht. Auch hier treten spontan bizen trische Doppelringe auf, und zwar um so häufiger, je größer das Ringchromosom ist. Diese werden nicht immer eliminiert, sondern können in der Telophase bei der Ausbildung der neuen Zellquerwand durchgeteilt werden; dieses geschieht besonders häufig bei den größten Ringchromosomen. Die beiden Ringhälften ergeben wieder geschlossene Ringe in der nächsten Teilung.

Für Mutationsversuche sind Ringchromosomen bisher nur gelegentlich herangezogen worden (CATCHESIDE, 1938, MULLER, MAKKI und SIDKY, 1939, MULLER, 1940). Auf die Ergebnisse, soweit sie in dem hier behandelten Zusammenhang wichtig sind, wird unten eingegangen werden.

Die vorliegende Untersuchung beruht methodisch auf der Feststellung der Abänderung des Geschlechtsverhältnisses der F_1 nach Bestrahlung der P-♂♂, aus der auf die unterschiedliche Mutabilität in X- und Y-Spermien geschlossen werden kann. Über Methode und Ergebnisse sind vorläufige Mitteilungen bereits veröffentlicht worden (BAUER und WESCHENFELDER, 1938; BAUER, 1939b).

II. Die Bestimmung der Bruchhäufigkeit aus der Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses in der F_1 .

A. Gang der Untersuchung.

Es wurden ♂♂ im Alter von 1—3 Tagen bestrahlt und danach mit ebenso alten ♀♀ für 2 Tage in Röhrchen belassen. Die ♀♀ wurden dann in 3 Passagen von 3, 2 und 4 Tagen zur Eiablage in Flaschen gebracht.

Alle Versuche wurden in Massenkulturen durchgeführt, wobei angestrebt wurde, durch mit der Röntgendosis steigende Anzahl der P-Tiere annähernd gleiche Besiedlungsdichte in allen Flaschen zu erzielen. Über die verwendeten Genotypen gibt der experimentelle Teil Auskunft.

Bei der Auszählung der F_1 wurden alle Gynandromorphen und Mosaiks, selbst kleinste, die nicht sehr selten sind, sowie alle Duplikations- $\sigma\sigma$ als $\varphi\varphi$ gezählt, da sie sich alle nachweislich von XX-Zygoten ableiten.

Die Bestrahlung wurde unter den folgenden Bedingungen vorgenommen: 115 kV, 10 mA, 1 mm Aluminiumfilter, Intensität 107 r/min. Nur bei den niedrigsten Dosen (75, 150, 375 r) kam eine geringere Intensität zur Anwendung (39 r/min).

Die X^c -Versuche wurden in 2 Gruppen durchgeführt, die erste, welche die Dosen von 250—6000 r umfaßte, in den Wintermonaten 1938 bis 1939, die zweite mit Zwischendosen von 75—3500 r im Frühjahr und Sommer 1939¹. Da wegen der großen Zahl gleichzeitig laufender Kulturen in Zimmertemperatur gearbeitet werden mußte, unterscheiden sich die Versuchsgruppen in den bei ihnen herrschenden Außenbedingungen; bei der ersten betrug das Temperaturmittel etwa 19°, bei der zweiten etwa 23—24°. Beide Gruppen unterscheiden sich weiter in der Besiedlungsdichte der Kulturen; über die Anzahl der P- $\varphi\varphi$ (die der $\sigma\sigma$ war jeweils etwas höher) und die durchschnittliche Anzahl der F_1 -Fliegen in je 3 Folgekulturen sind die Angaben in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. Mittlere Anzahl der P- $\varphi\varphi$ und der F_1 -Fliegen in je 3 Folgekulturen.

1. Versuchsgruppe			2. Versuchsgruppe		
Dosis	P- $\varphi\varphi$	F_1 -Fliegen	Dosis	P- $\varphi\varphi$	F_1 -Fliegen
0	8	539,5	0	10,3	871,8
250	8,4	691,0	75	11	1045,6
500	8	538,4	150	11	1050,7
750	10	724,7	375	11	1056,2
1000	12	641,1	625	10,5	874,0
1250	15	879,6	875	13,5	1107,0
1500	20	963,7	1125	16,5	1292,8
1750	23	1012,8	1375	21,8	1456,7
2000	25	942,5	1625	26,4	1542,0
2500	30	1031,2	1875	29,4	1414,9
3000	30	799,6	2250	33,6	1465,1
4000	40	544,7	3500	35	684,3
5000	70	607,2			
6000	100	462,7			

Aus ihr geht hervor, daß im mittleren Bereich von etwa 1000—3000 r die Anzahl der P- $\varphi\varphi$ zu hoch war, wenn auch im ganzen die Unterschiede der F_1 -Anzahlen das Verhältnis 1 : 2 nicht überschreiten. Im

¹ Meinem früheren Mitarbeiter Dr. WESCHENFELDER bin ich für die Durchführung der umfangreichen Kulturen und Zählungen zu Dank verpflichtet.

Mittel schlüpften nicht mehr als höchstens etwas über 500 Fliegen je Flasche; da dem Futter in allen Versuchen Hefe beigekeocht war und unter diesen Ernährungsbedingungen über 2000 normalgroße Fliegen aus einer Flasche aufgezogen werden können, ist der Einfluß der unterschiedlichen Bevölkerungsdichte als nur gering anzusehen.

B. Versuche mit dem X^+ -Chromosom¹.

1. Voraussetzungen.

In männlichen Gameten können durch Bestrahlung die folgenden Abänderungen ausgelöst werden: nichtgenomatische Schädigungen (Plasma, Centrosom?), Genmutationen und Chromosomenmutationen.

Unterschiede zwischen X- und Y-Spermien und damit zwischen den XX- und XY-Zygoten sind nur durch Gen- und Chromosomenmutationen möglich. Von den verschiedenen Arten der Genmutationen wiederum kann eine Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses nur durch *dominante Letalfaktoren* (L-Faktoren) bewirkt werden. Obwohl diese vielfach zur Erklärung der Eisterblichkeit herangezogen worden sind, ist ihr Auftreten doch bisher noch nie wirklich nachgewiesen worden². Als Ursache für eine unterschiedliche Mutationshäufigkeit in X- und Y-Spermien kann — das Vorkommen dieser L-Faktoren vorausgesetzt — ihre Beschränkung auf euchromatische Chromosomenabschnitte angenommen werden. Sie würden dann nie im Y-Chromosom auftreten, praktisch auch dann nicht, wenn man mit NEUHAUS (1939) die äußersten Enden des Y-Chromosoms als euchromatisch ansieht, da diese so kurz sind, daß sie gegenüber der Masse des X-Euchromatins vernachlässigt werden können. Unter den Näherungsannahmen, daß das X-Chromosom $\frac{1}{5}$ des gesamten Euchromatins enthält, und daß je Längeneinheit das autosomale Euchromatin die gleiche Mutationshäufigkeit wie das X-Euchromatin hat, daß also in X-Spermien nur 80% der in X-Spermien möglichen L-Faktoren auftreten, und unter der Voraussetzung, daß die L-Faktoren wie alle Genmutationen direkt proportional zur Dosis ausgelöst werden, ergeben sich die in Abb. 1 dargestellten Sterblichkeitskurven für XX- und XY-Zygoten und die dadurch bedingte Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses. Zygotische Sterblichkeit durch Chromosomenmutationen, deren Anteil sicher wesentlich höher liegt, ist hierbei natürlich nicht berücksichtigt worden.

¹ Mit X^+ wird im folgenden das normale stäbchenförmige X bezeichnet.

² Der einzige kreuzungsanalytische Weg, um ihr Vorkommen aufzudecken, besteht in der Untersuchung solcher semi-dominanter geschlechtsgebundener Letalfaktoren, die gegenüber 2 + -Allelen recessiv, gegenüber einem dominant sind. In der F_2 der Kreuzung triploider attached-X- $\varphi\varphi$ mit bestrahlten normalen $\sigma\sigma$ müßten sich solche Letalfaktoren durch den Ausfall der $\sigma\sigma$ und der einen Klasse der diploiden $\varphi\varphi$ anzeigen, vorausgesetzt daß der Austausch zwischen den mütterlichen und dem väterlichen X-Chromosom durch Wahl geeigneter Inversionen verhindert wird.

Von den Chromosomenmutationen spielen hier die wesentliche Rolle: Deletionen, Translokationen und bizentrische Chromatidentranslokationen nach einfachem Bruch.

a) *Deletionen*. Während kurze Stückausfälle des X-Chromosoms die Lebensfähigkeit der ♀-Zygoten erhalten, wenn auch sicher verringern, und lange zur Entstehung von ♂♂ mit Duplikationen führen, haben sich mittellange nie beobachten lassen. Da sie bei der zufälligen Bruchverteilung längs der Chromosomen und der zufallsgemäßen Rekombination der Bruchstellen, wie sie für Inversionen, Translokationen u. a. nachgewiesen worden ist (Mitt. I), auch auftreten müssen (und sich mit

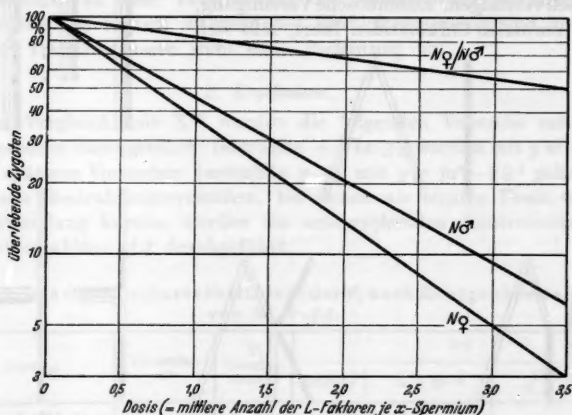


Abb. 1. Einfluß dominant-letaler Genmutationen auf das Überleben männlicher ($N_{\text{♂}}$) und weiblicher ($N_{\text{♀}}$) Zygoten und das Geschlechtsverhältnis in der F_1 ($N_{\text{♀}}/N_{\text{♂}}$) bei Annahme direkter Dosisproportionalität dieser Mutationen. (In der Unterschrift zur Abszisse muß es X- statt x-Spermien heißen.)

besonderen Versuchsanordnungen auch nachweisen lassen würden), sind sie also immer zygotenletal. Stückausfälle im Y-Chromosom sind dagegen ohne Wirkung auf die Lebensfähigkeit (wenn auch auf die Fertilität) der ♂♂.

b) *Translokationen*. Reziproke Translokationen können in zweierlei Art auftreten (Abb. 2); bei euzentrischer Rekombination entstehen durch Austausch der freien Enden wieder 2 monozentrische Chromosomen; bei dyszentrischer Rekombination durch Vereinigung der Enden untereinander ein bizentrisches und ein azentrisches Chromosom. Die letzteren wirken zygotenletal infolge sofortigen Ausfalls des azentrischen Rekombinationschromosoms und allmählichen Verlustes des bizentrischen Chromosoms infolge wiederholter Brückenbildung. Ein Unterschied zwischen X- und Y-Spermien könnte dann bestehen, wenn infolge

größerer Bruchhäufigkeit des X dieses häufiger Translokationen einging. Diese Möglichkeit ist jedoch anscheinend nicht verwirklicht, da nach DEMEREC und KAUFMANN (1938) die Bruchhäufigkeit von X und Y gleich ist. Die gleichen Überlegungen gelten für komplizierte Mehr-Bruch-Translokationen.

c) *Bizentrische Chromatidentranslokationen* (Abb. 3). Bizentrische Chromatiden können entstehen, wenn nach einem Bruch durch beide Chromatiden eines längsgespaltenen Chromosoms die beiden spindelansatztragenden Rumpfchromatiden sich an ihren Bruchstellen dyszentrisch vereinigen. Euzentrische Vereinigung, die zu normalen Chromatiden führt, läßt sich



Abb. 2.

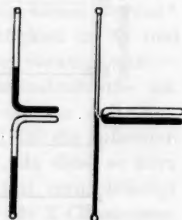
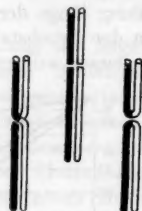


Abb. 3.

Abb. 2. Schema der Translokationen des X⁺-Chromosoms. Nach je einem Bruch im X⁺ und einem Autosom (oben) können sich die Bruchenden euzentrisch (unten links) zu lebensfähigen oder dyszentrisch (unten rechts) zu zygotisch-letalen Translokationen vereinigen.

Abb. 3. Schema der Ein-Bruch-Rekombination im X⁺-Chromosom. Nach einem Bruch und anschließender Längsteilung (oben Mitte) können sich die Chromatiden-Bruchenden außer zu normaler Anordnung euzentrisch (links) zu nicht erkennbaren oder dyszentrisch (rechts) zu rückläufigen Ein-Bruch-Rekombinationen vereinigen. Unten die zugehörigen Anaphasebilder.

dagegen nicht erkennen. Bizentrische Chromatiden können entweder durchgetrennt werden oder sie werden eliminiert. Während derartige Vorgänge bei Autosomen immer zygotenletal wirken, führt Elimination des X-Chromosoms zu XO-Zygoten, also zu Geschlechtsumwandlung. Durchtrennung ist in ihrer Wirkung nicht eindeutig; diese hängt von der Länge der bizentrischen Chromatide, also der Lage der primären Bruchstelle und dem weiteren Schicksal der bei der Durchtrennung entstehenden Brückenhälften ab. Zum großen Teil werden letale Genome entstehen. Dieselben Vorgänge am Y-Chromosom sind wieder für die Lebensfähigkeit der Zygoten ohne Bedeutung und unterbinden

nur die Fertilität der $\delta\delta$ durch Verlust eines Teils (bei Durchtrennung) oder aller Fertilitätsgene (bei Elimination).

Für die Entstehung solcher bizenstrischer Chromatiden kommt sowohl die Möglichkeit in Betracht, daß ein schon geteiltes Chromosom in beiden Chromatiden an homologen Stellen bricht, wie es unter anderen SAX (1938) und SAX und MATHER (1939) bei *Tradescantia* und MARQUARDT (1941b) bei *Bellevalia* u. a. wahrscheinlich gemacht haben, wie auch die andere Möglichkeit, daß ein Bruch in einem ungespaltenen Chromosom bis nach der Längsteilung rekombinationsfähig bleibt.

Es können demnach dominante Letalfaktoren, Deletionen und Einfachbrüche zu einer Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zugunsten der $\delta\delta$ führen, während der Einfluß reziproker und komplizierterer Translokationen wohl ohne Bedeutung ist.

2. Ergebnisse.

Zum Vergleich mit X^{c2} wurden die folgenden Versuche mit X^+ -Chromosomen durchgeführt: bestrahlte $+Fla$ - $\delta\delta$ wurden mit $y w cv f$ $\varphi\varphi$, in späteren Versuchen bestrahlte y - $\delta\delta$ mit $y w fa^{no}$ $\varphi\varphi^1$ gekreuzt. Zu diesen Bestrahlungsversuchen, bei denen als einzige Dosis 4000 r zur Anwendung kamen, wurden die entsprechenden Kontrollversuche mit unbestrahlten $\delta\delta$ durchgeführt.

Tabelle 2. Das Geschlechtsverhältnis in der F_1 nach Röntgenbestrahlung von X^+P - $\delta\delta$.

Kreuzung	Versuchsart	F_1 Gesamtanzahl	$\varphi\varphi$		
			Anzahl	% \pm m. %	korrig. % \pm m. %
$y w cv f \times +Fla$ (Zimmertemperatur)	Kontrolle 4000r	17129 8023	8800 3966	51,37 \pm 0,38 49,43 \pm 0,56	50,00 \pm 0,37 48,11 \pm 0,54
$y w fa^{no} \times y$ (27°)	Kontrolle 4000r	7936 10831	4029 5360	50,77 \pm 0,56 49,49 \pm 0,48	50,00 \pm 0,55 48,74 \pm 0,47

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Aus dieser geht hervor, daß in beiden Versuchen im φ -Prozentsatz ein geringer Unterschied zwischen Kontrolle und Experiment besteht, der nach den üblichen statistischen Verfahren als gesichert erscheint. Um bei diesen und den folgenden Versuchen die mit verschiedenen Genotypen durchgeführten Kreuzungen unmittelbar vergleichen zu können, wurde der Prozentsatz der $\varphi\varphi$ in den Kontrollen gleich 50,00 gesetzt und die Prozentsätze der zugehörigen Bestrahlungskreuzungen durch Multiplikation

¹ Der neue Faktor *facet-notchoid*, *fa^{no}*, liegt bei 3,0; er bewirkt Notch-artige Flügeländerung (Aderverdickung, Ausschnitte). — Das y -Chromosom wurde benutzt, weil es als Austauschchromosom aus X^{c2} erhalten und mit diesem mindestens im Bereich w^+ bis f^+ allelgleich ist.

mit dem aus der jeweiligen Kontrolle gewonnenen Faktor $N/2N_0$ korrigiert. Es zeigt sich so (Tabelle 2), daß die Abnahme der ♀♀ in beiden Versuchen etwa gleich groß ist. Diese Übereinstimmung spricht mehr noch als die statistische Prüfung etwa der Differenz von Kontroll- und Versuchswerten für die Realität des Strahleneffektes, da nach den oben bezeichneten Versuchsbedingungen mit einer größeren als der statistischen Streuung der Einzelwerte zu rechnen ist.

Der beobachtbare Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Kulturen ist klein. Daraus geht hervor, daß die *angeführten Mutationen*: L-Faktoren, Deletionen, Translokationen und — was im Hinblick auf die folgenden Befunde besonders wichtig ist — bizentrische Chromatidtranslokationen nach Einfach-Bruch in X^+ wie in Y-Chromosomen entweder von nahezu gleicher Häufigkeit (Translokationen) oder so selten sind, daß sie *keine nennenswerten Unterschiede in der Mutabilität beider Spermiesorten bewirken*.

C. Versuche mit dem X^{c2} -Chromosom.

1. Voraussetzungen.

Das Ring-X-Chromosom ist gegenüber X^+ in seinem Genbestand praktisch unverändert. Der Unterschied, der durch die Duplikation des proximalsten und den Ausfall des distalsten Endes besteht (SCHULTZ und CATCHESIDE 1938), ist so gering, daß er ohne weiteres vernachlässigt werden kann. Dominante Letalfaktoren sind also im gleichen Ausmaß wie in X^+ zu erwarten. Ebenso sollten von den Chromosomenmutationen die Deletionen in X^+ und X^{c2} gleich häufig sein (vgl. aber S. 418); dagegen sind durch die Ringform des X^c -Chromosoms für Translokationen und durch Einfach-Bruch entstehende bizentrische Chromatiden andere Verhältnisse gegeben.

a) *Translokationen*. Aus der Abb. 4 ist ohne weiteres ersichtlich, daß sowohl bei dyszentrischer wie euzentrischer Rekombination reziproke Translokationen immer bizentrische Chromosomen ergeben, die, da sie auch ein Autosom betreffen, immer zygotenletal sind. In allgemeiner Form ergibt sich der Einfluß der Stab- oder Ringform auf den Anteil lebensfähiger Mehrbruch-Rekombinationen durch folgende auf der Bruchhypothese beruhenden Ableitungen, wobei zunächst der Fall mit stäbchenförmigem X^+ betrachtet sei:

Durch b Brüche entstehen 2 b Bruchenden. Durch deren paarweise Vereinigung gibt es an möglichen Rekombinationen¹

$$R_m = 1 \cdot 3 \cdot 5 \cdot \dots (2b - 1).$$

¹ Bei CATCHESIDE (1938) ist in dieser Formel ein Druckfehler unterlaufen. Die Schreibweise $\frac{(2b)!}{b! 2^b}$, wie sie ähnlich MARQUARDT (1941) anwendet, bietet keinen Rechenvorteil.

Von diesen Rekombinationen ist nur der Teil lebensfähig, bei dem alle Rekombinationschromosomen monozentrisch sind und sämtliche Chromosomenabschnitte enthalten. Die seltenen Fälle mit lebensfähigen kurzen Deletionen können hier vernachlässigt werden; ebenso bleiben die Duplikationen unberücksichtigt, wie auch die sicher ganz seltenen, bisher nur für den Mais bekannten Fälle möglicher Querzerlegung eines Spindelansatzes in 2 funktionsfähige Teile. Der Anteil dieser lebensfähigen (vitalen) Rekombinationen (R_v) läßt sich folgendermaßen berechnen:

durch b Brüche werden
den a
 n beteiligten Chromo-
somen (-schenkeln)
 n Spindelansatzab-
schnitte,
 n Endabschnitte und
 $b-n$ Mittelabschnitte
gebildet.

Zwischen Spindelansatz- und Endabschnitten bestehen $n!$ Möglichkeiten für vollständige Rekombination zu monozentrischen Chromosomen. In die bei jeder Anfangsrekombination vorliegenden Rekombinationsstellen können

nun die Mittelabschnitte in jeweils normaler oder invertierter Lage eingeführt werden,

- der 1. Mittelabschnitt also auf $2n$ Weisen,
- der 2. Mittelabschnitt, da jetzt $n+1$ Rekombinationsstellen vorliegen, auf $2(n+1)$ Weisen,
- der 3. Mittelabschnitt dann auf $2(n+2)$ Weisen und
- der $(b-n)$ -te Mittelabschnitt auf $2[n+(b-n)-1] = 2(b-1)$ Weisen.

Die Gesamthäufigkeit der lebensfähigen Rekombinationen ist also

$$R_v = n! \cdot 2n \cdot 2(n+1) \cdot 2(n+2) \cdot \dots \cdot 2(b-1) = (b-1)! \cdot 2^{b-n} \cdot n. \quad (1)$$

Für $n=1=2$ wird

$$R_v = (b-1)! \cdot 2^{b-1}.$$

Für $n=b$ wird $R_v = b!$. Das ist der Fall, den CATCHESIDE allein berücksichtigt hat.

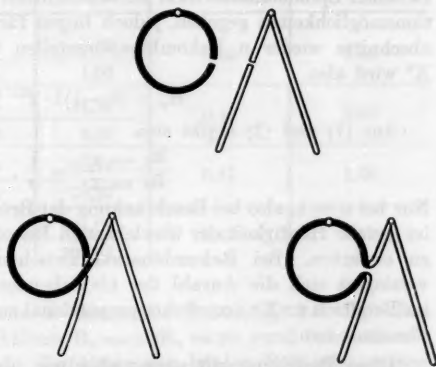


Abb. 4. Schema der Translokationen des X-Chromosoms. Nach je einem Bruch im X- und in einem Autosom (oben) entsteht sowohl nach euzentrischer (links unten) wie nach dyszentrischer (rechts unten) Vereinigung ein einziges bizentrisches Translokalisationschromosom.

Gegenüber dieser für X^+ geltenden Formel liegt für Rekombinationen mit X^c eine geringere Häufigkeit von R_v vor. Hier erzeugen b Brüche

- 1 offenes Ringchromosom,
- $n-1$ normale Spindelansatzabschnitte,
- $n-1$ normale Endabschnitte und
- $b-n$ Mittelabschnitte.

Die Bruchenden von X^c sind nicht frei kombinierbar, da in solchen Fällen letale Rekombinationen entstehen (vgl. aber unten). Es sind also zwischen Spindelansatz- und Endabschnitten nur $(n-1)!$ Rekombinationsmöglichkeiten gegeben, jedoch liegen für die Einfügung der Mittelabschnitte wieder n Rekombinationsstellen vor. Bei Beteiligung von X^c wird also

$$R_v = (b-1)! \cdot 2^{b-n}. \quad (2)$$

Aus (1) und (2) ergibt sich

$$\frac{R_v \text{ von } X^c}{R_v \text{ von } X^+} = \frac{1}{n}.$$

Nur bei $n=1$, also bei Beschränkung der Brüche auf das X-Chromosom, ist gleiche Häufigkeit der überlebenden Rekombinationen in X^+ und X^c zu erwarten. Bei Rekombination zwischen mehreren Chromosomen verringert sich die Anzahl der überlebenden Rekombinationen in X^c im Vergleich zu X^+ umgekehrt proportional zu der Anzahl der beteiligten Chromosomen.

Diese Beziehung gilt streng aber nur, wenn alle außer dem Ringchromosom vorhandenen Chromosomen einschenklig sind, oder wenn bei Anwesenheit V-förmiger Chromosomen diese nur mit je einem Schenkel an der Rekombination beteiligt sind. Nach Brüchen in beiden Schenkeln eines V-förmigen Chromosoms können sich die proximalen Bruchenden der Schenkel vereinigen und so ein Ringchromosom bilden, während die beiden dann frei gewordenen Endabschnitte bei einem Bruch in X^c seinen Bruchenden angefügt werden können, so daß es zu einem V-förmigen Chromosom wird.

Die Formeln (1) und (2) betreffen somit nur Sonderfälle. In allgemeiner Form ist, wie hier nicht im einzelnen abgeleitet zu werden braucht,

$$R_v = (b-1)! \cdot 2^{b-n} \cdot \frac{(n-r)!}{(n-1)!} \binom{r+z}{z}, \quad (3)$$

wobei r die Anzahl der beteiligten Ringchromosomen und z die Anzahl der mit beiden Schenkeln beteiligten zweisehenkligen Chromosomen darstellt.

Im Fall von *Drosophila melanogaster* mit einem Ringchromosom und 2 V-förmigen Autosomen wird R_v gegenüber (2) bei $r=1$ und $z=1$ verdoppelt, bei $r=1$ und $z=2$ verdreifacht. Immer bleibt aber R_v von X^c kleiner als R_v von X^+ .

In der Tabelle 3 sind die Berechnungen für einige R-Werte zusammengestellt. Sie beziehen sich auf Rekombinationen von 2—5 Brüchen in einem Kontaktpunkt bei Zufallsverteilung auf 5 gleichlange Chromosomenschenkel (X und 2 V-förmige Autosomen)¹ und bei Berücksichtigung

Tabelle 3. Erwartungsverhältnis von möglichen (R_m), letalen (R_l) und vitalen (R_v) Rekombinationen (Erklärung vgl. Text).

b	R_m	R_v		R_l	$\frac{R_v \text{ von } X^c}{R_v \text{ von } X^+}$	$\frac{R_l \text{ von } X^c}{R_l \text{ von } X^+}$
2	3	X^c	1,11	1,89	0,56	1,89
		X^+	2,00	1,00		
3	15	X^c	3,28	11,72	0,48	1,43
		X^+	6,82	8,18		
4	105	X^c	16,26	88,74	0,47	1,26
		X^+	34,73	70,27		
5	945	X^c	113,96	831,04	0,47	1,19
		X^+	240,07	704,93		

nur der Bruchkombinationen, an denen das X beteiligt ist. Bei allen b-Werten beträgt das Verhältnis $R_v \text{ von } X^c / R_v \text{ von } X^+$ rund 0,5, während natürlich das entsprechende Verhältnis der letalen Rekombinationen $R_l (= R_m - R_v)$ mit steigendem b wegen der starken Zunahme von R_l von fast 2 sich schnell 1 nähert. Da im Mittel die Bruchanzahl je Kontaktpunkt zwischen 2 und 2,5 liegt (vgl. Mitt. I), wird das Verhältnis der letalen Rekombinationen zwischen 2:1 und 1,5:1 liegen. Bei den Werten der Tabelle 3 sind alle, also auch die intrachromosomalen Rekombinationen sowie die durch die Wiedervereinigung der Brüche im X auftretenden autosomalen Rekombinationen eingerechnet. Wenn man sich auf die eigentlichen Translokationen beschränkte, würde der Verhältniswert sich nach 2 hin erhöhen, wie er für reziproke Translokationen gilt. Genauere Angaben sind aber für die hier behandelten Fragen überflüssig.

b) *Einfach-Brüche*. Ähnlich wie bei reziproken Translokationen führt bei einem Ringchromosom, dessen beide Chromatiden am gleichen Ort gebrochen sind, sowohl euzentrische wie dyszentrische Rekombination zu einem bizentrischen Chromosom, dem bizentrischen Doppelring (Abb. 5). Dyszentrische Vereinigung führt zu einem unsymmetrischen, euzentrische zu einem symmetrischen Doppelring.

¹ Das 4. Chromosom kann ebenso wie die Längenunterschiede der Schenkel vernachlässigt werden (vgl. BAUER, DEMEBRE und KAUFMANN sowie Mitt. I).

Auf S. 413 sind die Möglichkeiten erwogen worden, daß derartige Brüche durch beide Chromatiden entweder unmittelbar am gespaltenen Chromosom ausgelöst werden, oder daß die im ungespaltenen Chromosom aufgetretenen Brüche bis nach der Längsteilung des Chromosoms rekombinationsfähig bleiben. Hier muß noch eine weitere Möglichkeit in Betracht gezogen werden. Aus der Tatsache, daß Ringchromosomen im allgemeinen

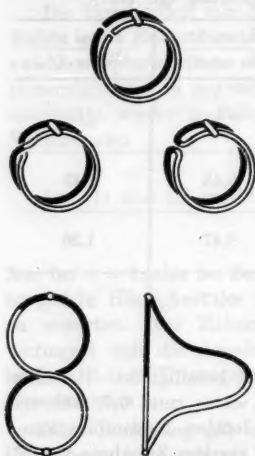


Abb. 5. Schema der Ein-Bruch-Rekombinationen im X-Chromosom. Nach einem Bruch und anschließender Längsteilung (oben Mitte) können sich die Chromatiden-Bruchenden außer zu normaler Anordnung euzentrisch (links) zu symmetrischen oder dyszentrisch (rechts) zu asymmetrischen bizentrischen doppelt-großen Ringchromosomen, den bizentrischen Doppelringen, vereinigen. Oben Metaphase-, unten Anaphasebilder.

stabil sind und sich im Teilungszyklus normal verhalten und daß die Entstehung bizentrischer Doppelringe eine Ausnahme darstellt, ist geschlossen worden, daß die Chromosomen eine konstante Teilungsebene besitzen, sie also im Querschnitt bilateral-symmetrisch gebaut sind (DARLINGTON, 1937; McCLINTOCK, 1938). Anderenfalls würden, allerdings nur, wenn nicht die Teilungsebene von einem Punkt, etwa dem Spindelansatz aus induziert würde, bei der Teilung vorwiegend bizentrische oder ineinanderhängende Tochterchromosomen entstehen, und wegen der damit gegebenen Störungen müßten die Ringchromosomen sehr schnell verlorengehen. Bizentrische Doppelringe können nun bei Vorliegen einer derartigen konstanten Teilungsebene auch dadurch entstehen, daß nach einem Bruch im ungespaltenen Chromosom die Wiedervereinigung der Bruchenden schon vor der Längsteilung erfolgt. Da die Chromosomen im Spermienkern sich in einem Zustand mechanischer Spannung befinden, wird die Vereinigung der Bruchenden nur selten in der ursprünglichen Lage des Chromosoms erfolgen; in den meisten Fällen wird vielmehr das eine Bruchende (oder beide) infolge der Möglich-

keit, die Spannung auszugleichen, eine Drehung um 180° oder um ein Vielfaches davon durchgemacht haben. Dieser Vorgang führt zu einer Torsion der Teilungsebene, durch die dann, genau wie im Modell der MÖBIUS-Ringe, bedingt wird, daß vorwiegend bizentrische Doppelringe oder ineinanderhängende Ringchromosomen entstehen.

Wenn dieser Vorgang bei der Entstehung bizentrischer Doppelringe eine Rolle spielt, dann muß er auch bei der Entstehung von Inversionen, Deletionen und Insertionen wirksam sein und zu einer Herabsetzung

der Häufigkeit dieser Chromosomenmutationen in X^c im Vergleich mit X^+ führen. Zur Klärung dieser Frage sind Untersuchungen im Gange.

2. Ergebnisse.

a) Die Dosisabhängigkeit. Die auf Bestrahlungsversuchen mit 24 verschiedenen Röntgendosen beruhenden Ergebnisse am X^c -Chromosom sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt. Die beiden Versuchsgruppen sind dabei getrennt angeführt, da sie, wie gesagt (vgl. S. 409), wegen der unterschiedlichen Versuchsbedingungen nicht voll vergleichbar sind.

Tabelle 4. Geschlechtsverhältnis in der F_1 der Kreuzung $ywcvvf \times X^{c2}, cvvf$ nach Röntgenbestrahlung der P- $\delta\delta$.

Dosis in r	F ₁ Gesamt- anzahl N	♀ ♀			Anzahl der Einzel- ver- suche	Streuung von N _♀ -% in den Einzel- versuchen	Wahr- schein- keit für Homo- genität P	
		Anzahl N _♀	% ± m-%	korrig. % ± m-%				
1. Versuchsgruppe	0	45321	22219	49,03 ± 0,23	50,00 ± 0,24	20	46,09—50,58	0,77
	250	35240	16785	47,63 ± 0,27	48,58 ± 0,27	14	45,85—49,55	0,55
	500	22074	10319	46,75 ± 0,34	47,68 ± 0,34	11	45,16—47,97	0,92
	750	29701	13609	45,82 ± 0,29	46,73 ± 0,29	11	43,90—47,38	0,32
	1000	28285	12867	45,49 ± 0,30	46,39 ± 0,30	11	43,82—48,33	0,04
	1250	35183	15566	44,24 ± 0,27	45,12 ± 0,27	11	43,10—45,40	0,57
	1500	39749	17175	43,21 ± 0,25	44,07 ± 0,25	12	41,96—44,62	0,62
	1750	40511	16992	41,94 ± 0,25	42,78 ± 0,25	10	40,84—43,36	0,72
	2000	34873	14470	41,49 ± 0,26	42,32 ± 0,27	10	39,49—43,26	0,001
	2500	42278	16824	39,79 ± 0,24	40,58 ± 0,24	11	37,82—41,77	0,02
	3000	31827	12431	39,06 ± 0,27	39,83 ± 0,28	11	37,57—41,25	0,37
	4000	22842	8295	36,31 ± 0,32	37,04 ± 0,32	16	34,75—39,03	0,88
5000	23681	7876	33,26 ± 0,31	33,92 ± 0,31	10	31,44—35,26	0,03	
6000	18070	5691	31,49 ± 0,35	32,12 ± 0,35	11	27,40—34,22	0,0003	
2. Versuchsgruppe	0	10462	5168	49,49 ± 0,49	50,00 ± 0,50	4	47,95—50,54	0,18
	75	25094	12113	48,27 ± 0,32	48,86 ± 0,32	8	47,50—49,68	0,49
	150	25217	12062	47,83 ± 0,31	48,42 ± 0,32	8	46,76—49,32	0,22
	375	25348	11987	47,29 ± 0,31	47,87 ± 0,32	8	44,30—48,56	0,05
	625	20975	9773	46,59 ± 0,34	47,16 ± 0,35	8	45,32—47,64	0,67
	875	26569	12219	45,99 ± 0,31	46,55 ± 0,31	8	44,60—47,25	0,42
	1125	31027	14132	45,55 ± 0,28	46,10 ± 0,29	8	43,93—48,02	0,05
	1375	34961	15627	44,70 ± 0,27	45,24 ± 0,27	8	43,95—46,23	0,54
	1625	37008	16049	43,37 ± 0,26	43,90 ± 0,26	8	42,09—44,50	0,18
	1875	33958	14516	42,75 ± 0,27	43,27 ± 0,27	8	40,96—44,79	0,03
	2250	35163	14602	41,53 ± 0,26	42,03 ± 0,27	8	40,04—42,79	0,12
	3500	8211	3128	38,10 ± 0,54	38,56 ± 0,54	4	37,03—39,07	0,53

Als unmittelbares Ergebnis zeigt sich (in der 3. Spalte der Tabelle 4) eine von 49,03 bzw. 49,49 bei den unbestrahlten Kontrollen bis zu 31,49 bei 6000 r gehende Senkung des φ -Prozentsatzes. Die nicht genau 50% betragenden Werte der Kontrollen könnten auf geringerer Vitalität der F_1 - $\varphi\varphi$ oder auf dem spontanen Auftreten derselben Mutationen beruhen, wie sie durch die Bestrahlung ausgelöst werden. Daß das letztere nicht zutrifft, ergaben Versuche mit unbestrahlten $\delta\delta$, die vor

der Kopulation 20 Tage lang gealtert waren. Der ♀-Prozentsatz betrug hier $49,86 \pm 0,50$ ($N = 9896$; 5 Versuche, P für Homogenität = 0,14), war also von den übrigen Kontrollen mit jungen ♂♂ nicht verschieden. Bei Letalfaktoren dagegen erhöht sich die Anzahl der Spontanmuta-

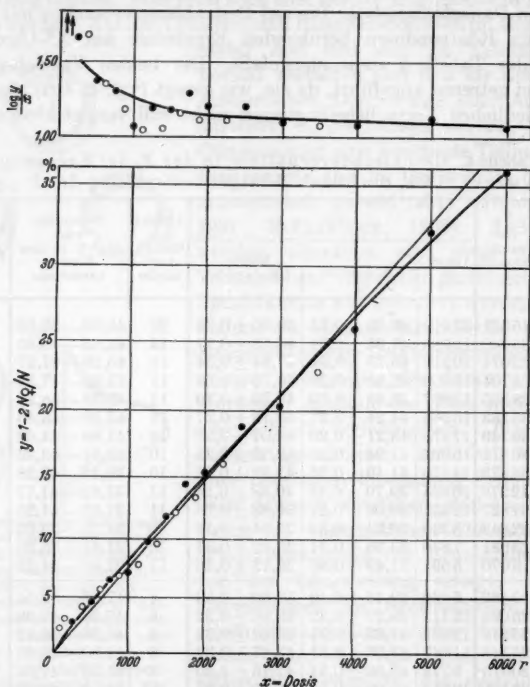


Abb. 6. Dosisabhängigkeit der Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses in der F_1 nach X^c -P-♂♂-Bestrahlung. Unten: Vergleich der aus den beobachteten Anzahlen erhaltenen Werte $1 - 2N_{\text{♀}}/N$ mit einer Eintreffer-Kurve (dünn ausgezogene Gerade); die Beobachtungswerte passen sich besser einer leicht gekrümmten Kurve (dick ausgezogen) an. Oben: erste Ableitung der Werte aus dem unteren Teilbild, ausgedrückt als $(\log y)/x$; bei Übereinstimmung der Beobachtungswerte mit einer Eintreffer-Kurve sollten alle Werte um eine parallel zur Abszisse verlaufenden Gerade liegen; sie folgen aber besser einer Kurve, die die erste Ableitung der Kurve des unteren Teilbildes darstellt.
• Werte der 1., o Werte der 2. Versuchsgruppe.

tionen unter den gleichen Alterungsbedingungen der Spermien auf das 3fache (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER, 1941). Der geringere ♀-Prozentsatz beruht also nicht auf gametischer Mutabilität von X^c , könnte aber seine Ursache in zum Ausfall des Ring-X führenden Störungen in der Keimbahn haben, die im Alterungsversuch nicht beeinflußt werden.

Die korrigierten ♀-Prozentsätze (vgl. S. 413) liegen zwischen 50,00 und 32,12. Durch die Bestrahlung wird also das Geschlechtsverhältnis von 1:1 bis auf rund 1:2 verschoben.

In den letzten 3 Spalten der Tabelle 4 sind Angaben über eine statistische Prüfung des Materials zusammengefaßt, wobei als Ergebnis in der letzten Spalte die nach der χ^2 -Methode gewonnenen Wahrscheinlichkeitswerte für Homogenität der aus 4–20 Einzelversuchen bestehenden Dosiswerten angeführt sind¹. Die 26 P-Werte sollten sich auf alle Intervalle von 0–1 gleichmäßig verteilen. Tatsächlich aber überwiegen die zu niedrigen Werte, ein unmittelbarer Hinweis darauf, daß infolge der Versuchsbedingungen eine etwas zu große Streuung der Einzel Versuchsergebnisse auftritt. Die Werte für den ♀-Prozentsatz sind also mit einem größeren als dem statistischen Fehler behaftet.

Um die Dosisabhängigkeit des Geschlechtsverhältnisses in einer den üblichen Mutationskurven vergleichbaren Form auszudrücken, wurde für jede Dosis aus dem korrigierten ♀-Prozentsatz der Wert $100 - 2N_s\%$ berechnet (vgl. Tabelle 8, linke Spalte). Diese Werte zeigen eine weitgehende Anpassung an den Verlauf einer Eintrefferkurve, wie aus Abb. 6, unten, hervorgeht. Besonders auch die schwächsten Dosen geben keinen Hinweis dafür, daß etwa eine sehr schiefe Mehrtrefferkurve vorläge. Besser als durch die Gerade lassen sich die beobachteten Werte bei aller Streuung zu einer auf dem halblogarithmischen Raster etwas konvex verlaufenden Kurve zusammenfassen; denn wie auch immer die Eintrefferkurve durch den Nullpunkt gelegt wird (Einwände gegen diese Einschränkung werden unten S. 431, berücksichtigt), stets liegen im unteren Bereich zu viele Werte zu hoch und im oberen Bereich zu viele Werte zu tief. Noch deutlicher zeigt sich dieses bei graphischer Differenzierung (Abb. 6, oben). Bei einer echten Eintrefferkurve sollten dann alle Werte um eine der Abszisse parallele Gerade streuen. Sie ordnen sich aber recht deutlich einer gekrümmten Kurve zu. Die Beobachtungskurve ist damit als gegenüber einer Eintrefferkurve stärker gekrümmt anzuspochen.

b) *Allgemeine Ableitung der überkrümmten Kurve.* Bevor die experimentelle Kurve genauer ausgewertet werden kann, muß zunächst das Zustandekommen einer überkrümmten Kurve erklärt werden. Hierfür ist nochmals die Tatsache zu betonen, daß bei Bestrahlung mit gleichen Röntgendosen bei X^+ keine nennenswerte, bei X^c dagegen eine erhebliche Wirkung zu beobachten ist. Wie oben gezeigt worden ist, muß dieser Unterschied auf den besonderen durch die Ringform von X^c gegebenen Verhältnissen beruhen; alle anderen Mutationen als die bizenrischen Doppelringe und die Translokationen können deshalb unberücksichtigt bleiben.

¹ Die P-Werte sind auf Grund der Tafeln von PÄTAU (1942) bestimmt worden.

Es lassen sich dann in formelmäßiger Darstellung einige einfache Beziehungen angeben. Es sei $2Z'$ die Anzahl der nicht durch autosomale Translokationen und andere Chromosomenmutationen ausfallenden Zygoten, d_X die Anzahl der ausgelösten bizentrischen Doppelringe, t_X die Anzahl der Translokationen, an denen X^c , und t_{YL} die der letalen (dyszentrischen) Translokationen, an denen Y beteiligt ist. Es wird dann

$$N_{\varnothing} = Z' - (d_X + t_X).$$

Tatsächlich sind zwar nicht alle X^c -Translokationen zygotenletal, wie auf S. 416 betont worden ist. Dieses gilt streng nur für reziproke Translokationen. Jedoch sind Mehrbruch-Translokationen selten (vgl. Mitt. I), so daß sie nicht ins Gewicht fallen.

Die Anzahl der $\varnothing\varnothing$ ist verschieden je nach dem Schicksal, das die Zygoten mit einem bizentrischen Doppelring erfahren. Bei Elimination von d_X und damit Geschlechtsumwandlung wird

$$N_{\varnothing} = Z' - t_{YL} + d_X.$$

Es ist dann

$$1 - \frac{2N_{\varnothing}}{N} = \frac{2d_X + t_X - t_{YL}}{2Z' - t_X - t_{YL}}. \quad (4)$$

Führt d_X dagegen zu Letalität, so ergibt sich eine der für Elimination ganz ähnliche Gleichung. Es ist dann

$$N_{\varnothing} = Z' - t_{YL}$$

und

$$1 - \frac{N_{\varnothing}}{N_{\varnothing}} = \frac{d_X + t_X - t_{YL}}{Z' - t_{YL}}. \quad (5)$$

Diese Formeln lassen sich noch etwas vereinfachen, wenn man berücksichtigt, daß alle wirksamen Brüche in X^c , d. h. alle, die nicht zu einer vollständig normalen Wiedervereinigung führen, sich entweder an einer Translokation beteiligen (wenn ein autosomaler Bruch zur Rekombination zur Verfügung steht) oder bizentrische Doppelringe ergeben (vgl. jedoch unten). Die Gesamtheit der wirksamen Brüche in X^c wird somit

$$b_X = d_X + t_X.$$

Wird dieses in die Formeln (4) und (5) eingesetzt, so ergibt sich bei Elimination von d_X

$$1 - \frac{2N_{\varnothing}}{N} = \frac{b_X - \frac{1}{2}(t_X + t_{YL})}{Z' - \frac{1}{2}(t_X + t_{YL})}, \quad (6)$$

Letalität von d_X

$$1 - \frac{N_{\varnothing}}{N_{\varnothing}} = \frac{b_X - t_{YL}}{Z' - t_{YL}}. \quad (7)$$

Diese Formeln sind nun zwar dadurch gekennzeichnet, daß auch im Nenner dosisabhängige Größen stehen, für welche sich Zahlenwerte nicht unmittelbar dem Experiment entnehmen lassen. Doch läßt sich die Frage nach der Art der Dosisabhängigkeit von b_X auf einem Umwege beantworten.

Nach den Ergebnissen der Mutationsanalyse an den Speicheldrüsenchromosomen (Mitt. I) gehen Translokationen wie alle Arten von Chromosomenmutationen, die erhaltungsfähig sind, auf Mehrtreffer-Ereignisse zurück. Die Tatsache, daß die mittlere Anzahl der an einem Kontaktpunkt beteiligten Brüche mit steigender Dosis wächst, hat weiter bewiesen, daß als primäres Mutationsereignis der Einzelbruch angesehen werden muß. Um in der Kombination der Zwei- und Mehrbruch-Mutationen die beobachtete Mehrtrefferkurve zu ergeben, müssen diese Einzelbrüche mit einer Trefferzahl ~ 1 ausgelöst werden.

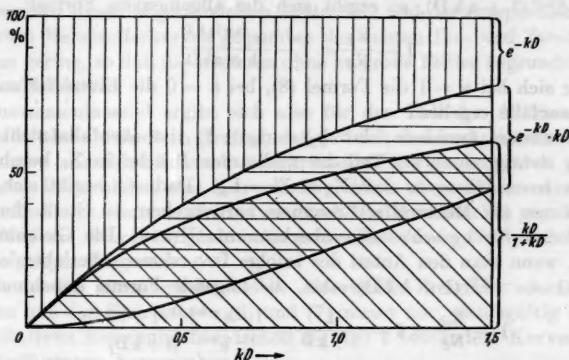


Abb. 7. Beziehungen zwischen den Ein- und Zweittreffer-Kurven und der Hyperbel $\frac{kD}{1+kD}$; diese ist im wiedergegebenen Abschnitt stärker gekrümmt als die Eintreffer-Kurve.

Werden diese Schlußfolgerungen hier der weiteren Ableitung zugrunde gelegt und dabei die vereinfachende Annahme gemacht, daß b_X einer reinen Eintrefferkurve, t_{YL} (bzw. $\frac{1}{2} t_X + \frac{1}{2} t_{YL}$) der zugehörigen Zweittrefferkurve mit gleichem k in der allgemeinen Trefferformel

$$y = 1 - e^{-kD} \sum_{m=0}^{n-1} \frac{(kD)^m}{m!}$$

folgen, so können in die Gleichung (7) die entsprechenden Werte der Trefferformel, $b_X = 1 - e^{-kD}$ und $t_{YL} = 1 - e^{-kD} (1 + kD)$ eingesetzt werden. Es wird dann bei Letalität von d_X , auf $Z' = 1$ bezogen,

$$1 - \frac{N_2}{N_3} = \frac{kD}{1 + kD} = 1 - \frac{1}{1 + kD}. \quad (8)$$

Diese Funktion, die sich bei gleichartiger Behandlung auch für die Gleichung (6) ergibt, stellt nun, wie aus dem Fehlen von e hervorgeht, keine eigentliche Trefferkurve mehr dar, sondern eine Hyperbel, deren im positiven Quadranten verlaufender Ast gegenüber der Eintrefferkurve von gleichem k anfangs stärker, von $kD = 2,513$, dem Schnittpunkt der ersten Ableitungen beider Funktionen, ab, wie rechnerisch

ermittelt wurde, schwächer gekrümmt verläuft¹. Die Beziehungen zwischen diesen Kurven sind in der Abb. 7 dargestellt. Die der Gleichung (8) folgende Kurve zeigt also wie die experimentell erhaltene der Abb. 6 die stärkere Krümmung im untersuchten Bereich.

Die Formel (8) ist auf dem Wege über einige vereinfachende Annahmen abgeleitet worden, deren Einfluß nun noch zu prüfen ist. Zunächst ist t_{YL} [bzw. der entsprechende Ausdruck in Gleichung (6)] sicher nicht gleich der Zweitrefferkurve, die zu der b_X repräsentierenden Eintrefferkurve gehört, hat also nicht gleiches kD . Setzt man $t_{YL} = 1 - e^{-akD}(1 + akD)$, so ergibt sich die allgemeinere Formel

$$1 - \frac{N_0}{N_3} = 1 - \frac{e^{(a-1)kD}}{1 + akD},$$

aus der sich bei $a = 1$ die Formel (8), bei $a = 0$ die Eintrefferkurve als Grenzfälle ergeben.

Die weitere Annahme, daß $b_X = d_X + t_X$, ist ebenfalls nicht vollständig richtig; denn ein Teil der wirksamen Brüche in X_c kombiniert sich zu Inversionen, so daß $N_0 > Z' - b_X$. Dadurch ergibt sich, weil Inversionen auf Mehrtreffer-Ereignisse zurückgehen, an Stelle der Eintrefferkurve für b_X schon eine überkrümmte Kurve. Die Gleichung (8) würde, wenn man den Anteil der infolge Inversionen überlebenden $\varphi\varphi$ gleich $1 - e^{-bkD}(1 + bkD)$ setzt, die folgende Formel annehmen:

$$1 - \frac{N_0}{N_3} = 1 - \frac{1}{1 + kD} - \frac{1 - e^{-bkD}(1 + bkD)}{e^{-kD}(1 + kD)}.$$

Die sie darstellende Kurve zeigt eine gegenüber Gleichung (8) verstärkte Krümmung; bei höheren Werten von b würde sie sogar mit steigendem kD nicht mehr zu $+1$ als Grenzwert hin verlaufen, sondern sich abwärts krümmen und negative Werte (φ -Überschuß) annehmen können.

Die gegenüber dem ursprünglichen Ansatz geringere Häufigkeit von t führt also zu einer verminderten, das Auftreten der Inversionen zu einer verstärkten Krümmung. Beide Faktoren wirken somit gegensätzlich und werden in der Resultante eine etwas geringere Krümmung als nach (8) ergeben, weil reziproke Translokationen eine größere Häufigkeit haben, die sich zu der der Inversionen wie 2:1 verhält (Mitt. I), doch könnte dieses Verhältnis noch größer werden — und damit die Krümmung noch geringer —, wenn, wie es oben als möglich erörtert wurde (S. 418), Inversionen in X^c seltener sind als in X^+ .

Diese Erweiterungen rechnen wie die ganze bisherige Ableitung damit, daß sich alle Beziehungen durch echte Ein- und Zweitrefferkurven ausdrücken lassen. Auch diese Annahme ist nicht unbedingt richtig. Die Brüche an verschiedenen Orten des Chromosoms brauchen nicht alle mit gleichem k auslösbar zu sein; durch diese als „biologische Variabilität“

¹ Herrn Dr. PATAU schulde ich Dank für seine Ratschläge bei der Behandlung dieser und anderer mathematischer Fragen.

zusammengefaßte unterschiedliche Bruchwahrscheinlichkeit der einzelnen Bruchorte (ZIMMER 1941; LANGENDORFF und SOMMERMEYER, 1940) kommt schon bei der Eintrefferkurve eine Überkrümmung zustande. Doch wird diese in dem hier behandelten Zusammenhang wohl nur in begrenztem Umfang beteiligt sein; jedenfalls liegt kein Grund zu der Annahme vor, daß so extreme Verhältnisse vorliegen, wie sie ZIMMER in seiner Abb. 2, Kurve 3, auf Grund der Annahme mutationsfähiger Einheiten gleicher Häufigkeit, aber von wie 1 : 10 verschiedenem k berechnet hat. Sind solche Verhältnisse nicht zu erwarten, so bleibt der Unterschied dieser abgewandelten Eintreffer- und der entsprechend veränderten Mehrtrefferkurven gegenüber den echten Ein- und Zweitrefferkurven gering, so daß die letzteren ohne zu große Fehler zugrunde gelegt werden können.

Zusammenfassend ergibt sich also für den Fall der Auslösung der Einzelbrüche durch einen Treffer, daß je nach den komplizierenden Bedingungen verschieden stark überkrümmte Kurven erwartet werden können. Diese bilden eine Kurvenschar, deren obere Grenze durch die Eintrefferkurve, deren untere etwa durch die Funktion (8) gegeben ist. *Das Maß der Bruchhäufigkeit ist in jedem Fall die im Nullpunkt an die Kurve gelegte Tangente.*

Wenn die Einzelbrüche selbst Mehrtreffer-Ereignisse darstellten, würden aus den Gleichungen (6) und (7) immer nur, gleichgültig welche quantitativen Beziehungen zwischen b_x und t bestünden, Kurven vom Mehrtreffertypus hervorgehen.

c) *Das Schicksal der Zygoten mit bizentrischen Doppelringen.* Als weitere Vorfrage muß noch geprüft werden, wie häufig die bizentrischen Doppelringe eliminiert werden oder zygotisch letal wirken. Zwischen diesen beiden Verhaltensweisen zu unterscheiden, ist auf verschiedene Weisen möglich. Die Versuchsanordnung muß so getroffen werden, daß sich die bei Geschlechtsumwandlung infolge Elimination auftretenden XO-♂♂ als besondere Klasse erfassen lassen. Am einfachsten ist das auf genetischem Wege möglich. Dabei gehen alle Kreuzungsverfahren darauf zurück, ein Y zu verwenden, das einen im weiteren Sinne über einen des X dominanten Faktor enthält. Da geeignete Spezialstämme nicht zur Verfügung standen, wurde die Untersuchung mit einer reziproken Translokation zwischen Y und dem Autosom 2, das den dominanten Faktor *Lobe* (L) enthielt, durchgeführt.

Diese T Y-2 wurde auf dem üblichen Wege hergestellt: Röntgenbestrahlte ♂♂ eines *Lobe/Curly*-Stammes wurden mit $+-\varphi\varphi$ gekreuzt, die F_1 - $L-\delta\delta$ mit $+-\varphi\varphi$ rückgekreuzt und unter den F_2 -Einzelkreuzungen diejenigen Kulturen ausgesucht, in denen L nur im ♂ auftrat. Unter einer Reihe solcher Translokationsstämme wurde einer ausgewählt, der einen niedrigen Prozentsatz spontaner Ausnahmestiere ergab. Die cytologische Untersuchung an Speicheldrüsen zeigte ein normales

Tabelle 5. Das Geschlechtsverhältnis in der F_1 der Kreuzung normaler bestrahlten ♂♂

Nr.	Kreuzung	Versuchs- art	F_1 Gesamt- anzahl	L -♂♂ (XY)	
				Anzahl	% \pm m-%
1	$y w fa^{no} \times X^+, y; TY-2, L$	Kontrolle	2672	1039	38,88 $\pm 0,94$
2		4000r	4581	1795	39,18 $\pm 0,72$
3	$y w fa^{no} \times X^{c2}, +; TY-2, L$	Kontrolle	3216	1278	39,74 $\pm 0,86$
4		4000r	3158	1604	50,79 $\pm 0,89$

Chromosomenbild. Der Bruch in Chromosom 2 muß also im Heterochromatin liegen.

Diese nur heterozygot verwandte Translokation zeigt, wie alle heterozygoten Translokationen, scheinbare Koppelung der beiden beteiligten Chromosomen. Alle normalen ♂♂ sind also L , alle ♀♀ L^+ . Die XO -♂♂ lassen sich als umgewandelte ♀♀ an ihrer normalen Augenform erkennen.

Diese Translokation wurde mit X^+ und X^c kombiniert und in beiden Fällen Kontroll- und Bestrahlungsversuche, letztere mit der einzigen Dosis von 4000 r, durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Einer Erörterung bedarf zunächst die X^+ -Kontrolle (Zeile 1 der Tabelle 5). Sie zeigt einmal, daß die erwarteten Klassen, L -♂♂ und L^+ -♀♀ sehr ungleich häufig sind. Statt wie 1:1 treten sie im Verhältnis 1:1,5 aus. Hierin drückt sich die durch die Translokation verringerte Lebensfähigkeit der ♂♂ auf. Daneben treten als Ausnahmeklassen L^+ -♂♂ und L -♀♀ auf. Diese könnten in ihrem Ursprung auf verschiedene Weise gedeutet werden: Abgesehen von der unwahrscheinlichen Annahme von spermatogonialem Faktorenaustausch kommen Verteilungsstörungen in den Reifeteilungen in Betracht. Die Spaltungsmöglichkeiten der aus X, 2 und den beiden Translokationschromosomen bestehenden Vierergruppe gibt Tabelle 6 wieder. Aus ihr geht hervor, daß primäre Ausnahmetiere nur bei Nondisjunktion (4. Zeile der Tabelle 6) entstehen können. Da im ♂ nun keine Möglichkeit zu gerichteter Reduktion bei Nondisjunktion besteht, wie sie im ♀ vorkommt, sollten die komplexeren Gameten gleich häufig sein und die sich von ihnen herleitenden Zygoten in ihrem Häufigkeitsverhältnis dem der normalen Klassen entsprechen. Statt aber wie 1:1,5 verhalten sie sich wie 1:6. Es tritt also ein durch primäre Nondisjunktion nicht erklärbarer Überschuß von XO -♂♂ auf. Dieser kann nur durch Elimination bestimmter Chromo-

♀♀ mit für die Y-2-Translokation heterozygoten, unbestrahlten und Kulturen bei 27°.

$L^+ \text{♂♂ (XO)}$		$L^- \text{♀♀ (XXY)}$		$L^+ \text{♀♀ (XX)}$		Alle ♀♀ korrig. % ± m-%
Anzahl	% ± m-%	Anzahl	% ± m-%	Anzahl	% ± m-%	
61	2,28 ± 0,29	10	0,37 ± 0,12	1562	58,46 ± 0,95	50,00 ± 0,81
225	4,91 ± 0,32	10	0,22 ± 0,07	2551	55,69 ± 0,73	47,51 ± 0,62
81	2,52 ± 0,28	11	0,34 ± 0,10	1846	57,40 ± 0,87	50,00 ± 0,75
304	9,63 ± 0,52	8	0,25 ± 0,09	1242	39,33 ± 0,87	34,28 ± 0,75

somen während der Reifeteilungen oder in der 1. Furchungsteilung entstehen. Die dafür vorhandenen Möglichkeiten zeigt ebenfalls Tabelle 6, und zwar kommen in erster Linie die durch die unbalancierten Gameten gegebenen Möglichkeiten in Betracht (Zeilen 2—3), da die auf sie zurückgehenden Zygoten ebenso häufig gebildet werden müssen wie die balancierten (Zeile 1), während die Nondisjunktionsklassen (Zeilen 4—7) von vornherein zu selten sind. Von den unbalancierten Klassen können nur die Zygoten ohne väterliches X durch Elimination von 2-Y bzw. Y-2 lebensfähig werden, also $XO \cdot \text{♂♂}$ ergeben. Eine komplementäre Klasse von Ausnahme-♀♀ gibt es dazu nicht. Solche ♀♀ sind zwar aus Zygoten ableitbar, die von Nondisjunktiongameten herkommen (Zeile 5, 6), doch sind sowohl Nondisjunktion wie Elimination seltene Ereignisse, so daß ihr Zusammentreffen ganz unwahrscheinlich wird; allerdings würden

Tabelle 6. Die Möglichkeiten der Gameten- und Zygotenbildung in der Kreuzung normaler ♀♀ mit für die Y-2-Translokation heterozygoten ♂♂: $\frac{X}{X} \frac{2}{2} \times \frac{Y-2}{X} \frac{2}{2} \frac{Y}{2}$ ($L = \text{Lobe}$)

		♂-Gameten		Zygoten	
				ursprünglich	nach Elimination
Balanciert	1.	Y-2, 2-Y	X, 2	XY, L	XX, L ⁺ $\xrightarrow{(X)} XO, L^+$
Unbalanciert	2.	X, Y-2	2-Y, 2	Letal	Letal $\xrightarrow{(2-Y)} XO, L^+$
	3.	X, 2-Y	Y-2, 2	Letal	Letal $\xrightarrow{(Y-2)} XO, L^+$
Aneuploid (Nondisjunktion)	4.	2	X, Y-2, 2-Y	XO, L ⁺	XXY, L $\xrightarrow{(X)} XY, L$
	5.	Y-2	X, 2-Y, 2	Letal	Letal $\xrightarrow{(2-Y)} XX, L^+$
	6.	2-Y	X, Y-2, 2	Letal	Letal $\xrightarrow{(Y-2)} XX, L^+$
	7.	X	Y-2, 2-Y, 2	Letal	Letal $\xrightarrow{(2)} XY, L$

die dabei entstehenden XX-♀♀ sich auch nicht von normalen L^+ -♀♀ unterscheiden lassen. Die größere Häufigkeit der Ausnahme-♂♂ beruht also auf spontaner Elimination in ursprünglich unbalancierten Zygoten.

Der zu dieser Kontrolle gehörige Bestrahlungsversuch (Tabelle 5, Zeile 2) zeigt dieselbe Erscheinung wie alle X^+ -Versuche (vgl. Tabelle 2): die Häufigkeit der ♀♀ wird etwas verringert, und zwar, wie der korrigierte Prozentsatz zeigt, um etwa das gleiche wie in den früheren Versuchen. Gleichzeitig steigt die Anzahl der Ausnahme-♂♂ auch auf etwa das Doppelte der Kontrolle. Hierin ist ebenfalls in erster Linie eine röntgeninduzierte Erhöhung der Elimination zu erblicken. Ein Teil könnte allerdings auch auf dem Auftreten sehr langer Deletionen im autosomalen Schenkel des in den unbalancierten Gameten vorhandenen Y-2- oder 2-Y-Chromosoms beruhen, wodurch das Restchromosom als überzähliges Element das Gengleichgewicht nicht mehr so stark verschiebt, daß die unbalancierte Zygote abstirbt. Jedoch dürften solche großen Deletionen zu selten sein, um einen nennenswerten Anteil der XO-♂♂ zu liefern.

Die Versuche, in welchen die Translokation mit X^c kombiniert war, entsprechen wiederum den oben behandelten X^c -Versuchen. Die Kontrolle (Zeile 3) ist von der X^+ -Kontrolle statistisch nicht verschieden. Nach Röntgenbestrahlung (Zeile 4) erfolgt eine erhebliche Abnahme der ♀♀ auf korrigiert 34,28%¹.

Andererseits steigt die Anzahl der Ausnahme-♂♂ beträchtlich, auf etwa das Vierfache des Kontrollwertes, also erheblich mehr als in den Versuchen mit X^+ . Diese verstärkte Zunahme der XO-♂♂ muß auf Kosten der normalen ♀♀, also durch Elimination der bizentrischen Doppelringe entstanden sein.

Tabelle 7. Berechnung der Häufigkeit der Elimination bizentrischer Doppelringe (Erläuterung im Text).

Kreuzungs-Nr. aus Tabelle 5	% XY-♂♂	% XO-♂♂	% ♀♀	Gesamt	Anteil der Elimination am ♀-Ausfall
3	39,74	2,52	57,74	100,00	
4, auf 3 bezogen	39,74	7,53	30,97	78,24	$\frac{5,01}{26,77} = 18,7\%$
Differenz	—	+ 5,01	— 26,77	— 21,76	
2	39,18	4,91	55,91	100,00	
4, auf 2 bezogen	39,18	7,43	30,53	77,14	$\frac{2,52}{25,38} = 9,9\%$
Differenz	—	+ 2,52	— 25,38	— 22,86	

¹ Sowohl in den X^+ - wie in den X^c -Versuchen sinkt nach Bestrahlung auch die Anzahl der Ausnahme-♀♀ etwas, und zwar in beiden Serien etwa gleichstark, wenn auch in jedem Einzelfall nicht statistisch gesichert. Da diese Abnahme nur 0,15 bis 0,09% beträgt, braucht sie hier nicht berücksichtigt zu werden, wie auch die Erörterung der möglichen Ursachen unterbleiben kann.

Um nun den Anteil zu berechnen, den die Elimination am ♀-Ausfall hat, wurde folgendermaßen vorgegangen (Tabelle 7). Da die normale (*L*-)♂-Klasse durch die Mutationen in X^c nicht beeinflusst wird, wurde der ♂-Prozentsatz des Bestrahlungsversuches dem der Kontrolle gleichgesetzt und die übrigen Klassen entsprechend korrigiert, indem sie mit dem Faktor $N_{XY - \text{Kontr.}} / N_{XY - 4000 r}$ multipliziert wurden; darauf wurden die Differenzen zwischen den Kontroll- und den so korrigierten Bestrahlungswerten gebildet. Zwischen der X^c -Kontrolle und der X^c -Bestrahlung ergibt sich so ein ♀-Ausfall von 26,77%, der zum geringen Teil durch die Zunahme der XO -♂ um 5,01% ausgeglichen wird. Als Anteil der Elimination ergibt sich dann, da Vitalitätsunterschiede zwischen XO -♂ und XX -♀♀ wegen der Abwesenheit der Translokation nicht bestehen, der Quotient $5,01 : 26,77 = 18,7\%$. Von den Zygoten, die einen bizentriscen Doppelring erhalten, sterben also 81,3%, während die übrigen zu ♂♂ umgewandelt werden.

Genauer wäre natürlich der Vergleich nicht der beiden X^c -Versuche, sondern der der beiden Bestrahlungsversuche mit X^+ und X^c ; denn auch bei X^+ erfolgt durch die Bestrahlung ja eine Zunahme der XO -♂. Bezieht man diese beiden Versuche in derselben Weise aufeinander (Tabelle 7 unten), so erhält man einen geringeren Anteil der Elimination in Höhe von nur 9,9%.

Es ergibt sich also, daß die bizentriscen Doppelringe in 10–20% eliminiert werden und in 90–80% wohl auf dem Wege der fortgesetzten Querdurchtrennung und Brückenbildung und der dadurch bedingten Störung des genischen Gleichgewichtes zum Absterben der sich entwickelnden Eier führen. Diese Anteile der beiden Verhaltensweisen sind von der Bestrahlung unabhängig und somit für alle Dosen als gleich zu setzen.

d) *Die Bruchhäufigkeit.* Die Klärung der Vorfragen nach dem Zustandekommen der überkrümmten Kurve und nach dem Schicksal der Zygoten mit einem bizentriscen Doppelring erlaubt nun, das Beobachtungsmaterial der Tabelle 4 genauer auszuwerten.

Zunächst sind die korrigierten ♀-Prozentsätze nach den Formeln (6) und (7) umgerechnet worden (Tabelle 8, die beiden linken Spalten), aus ihnen wurde für jede Dosis der Wert für 18,7% Elimination, das ♀-Defizit erhalten (3. Spalte der Tabelle 8).

Die Werte für 9,9% Elimination sind nicht wiedergegeben worden. Sie sind zwar die korrekten, aber nur dann verwertbar, wenn die X^c -♀-Prozentsätze auf diejenigen gleicher Dosis für X^+ bezogen werden. Hierdurch werden die Prozente der linken Spalten der Tabelle 8 etwas erniedrigt, während die geringere Elimination wieder eine Erhöhung bedingt. Die endgültigen Werte würden also in beiden Berechnungsweisen wieder mindestens weitgehend übereinstimmen.

Die ♀-Defizitwerte sind in der Abb. 8 eingetragen und ihnen eine möglichst genau passende, der Formel (8) entsprechende überkrümmte Kurve graphisch zugeordnet¹. Die Abb. 8 zeigt, daß die Einzelwerte sich dieser Kurve gut anfügen. Der Grad der Übereinstimmung läßt sich aber besser als aus der Abbildung einer vereinfachten statistischen Prüfung entnehmen. Tabelle 8 enthält in der 4. Spalte die mittleren Fehler zu den ♀-Defizitwerten. Diese sind die umgerechneten Fehler

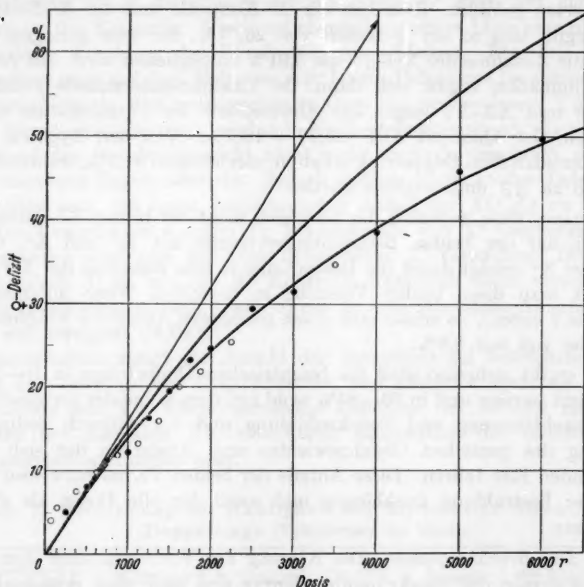


Abb. 8. Vergleich der ♀-Defizit-Werte mit der Funktion $\frac{kD}{1+kD}$; die Werte fügen sich der Hyperbel gut an mit Ausnahme des Anfangsstelles. Darüber eingezeichnet die zugehörige Eintreffer-Kurve und die kD -Gerade. • Werte der 1., o Werte der 2. Versuchsgruppe.

der beobachteten ♀-Prozentsätze der Tabelle 4 und wurden so gewonnen, daß $N_2\%$ — $m\%$ und $N_2\% + m\%$ genau so behandelt wurden wie die $N_2\%$ -Werte. Man erhält so um eine Fehlerbreite nach oben und unten veränderte ♀-Defizitwerte, deren geringfügig verschiedene Differenzen gemittelt die in der 4. Spalte der Tabelle 8 eingetragenen Fehler darstellen. Die 5. Spalte der Tabelle gibt die Erwartungswerte an, die sich aus der in Abb. 8 eingetragenen Kurve geben; und die letzte Spalte

¹ Eine rechnerische Zuordnung durch Ermittlung eines gewichteten Mittelwertes von k aus den Experimentaldaten führt wegen der Abweichungen der niedrigen Dosiswerte zu größeren Unstimmigkeiten.

Tabelle 8. Berechnung des ♀-Defizits und Vergleich mit der Funktion

Dosis	$\frac{kD}{1+kD}$				
	$1 - \frac{2N_0}{N} \%$	$1 - \frac{N_0}{N_5} \%$	♀-Defizit (18,7 % Elimination)		Fehlerbreite der ♀-Defizit-Werte. innerhalb derer die Erwartungswerte liegen
	(100 % Elimination)	(0 % Elimination)	nach Tabelle 4 berechnet	erwartet nach Gleichung (3) für $k = 1,6 \cdot 10^{-4}$ (Abb. 8)	
75	2,28	4,46	$4,05 \pm 1,11$	1,19	-3 m
150	3,17	6,14	$5,59 \pm 1,09$	2,34	-3 m
250	2,85	5,53	$5,03 \pm 0,94$	3,85	-2 m
375	4,27	8,19	$7,45 \pm 1,07$	5,66	-2 m
500	4,65	8,88	$8,09 \pm 1,15$	7,41	-1 m
625	5,68	10,74	$9,80 \pm 1,15$	9,09	-1 m
750	6,54	12,28	$11,20 \pm 0,96$	10,71	-1 m
875	6,90	12,91	$11,78 \pm 1,00$	12,28	+1 m
1000	7,21	13,45	$12,28 \pm 0,97$	13,79	+2 m
1125	7,79	14,46	$13,22 \pm 0,91$	15,24	+3 m
1250	9,76	17,78	$16,28 \pm 0,83$	16,67	-1 m
1375	9,51	17,37	$15,90 \pm 0,83$	18,03	+3 m
1500	11,87	21,21	$19,47 \pm 0,75$	19,35	-1 m
1625	12,22	21,78	$19,99 \pm 0,77$	20,63	+1 m
1750	14,45	25,25	$23,23 \pm 0,71$	21,88	-2 m
1875	13,46	23,73	$21,81 \pm 0,79$	23,08	+2 m
2000	15,36	26,64	$24,53 \pm 0,76$	24,24	-1 m
2250	15,93	27,49	$25,33 \pm 0,74$	26,47	+2 m
2500	19,03	31,97	$29,29 \pm 0,65$	28,57	-2 m
3000	20,33	33,79	$31,28 \pm 0,73$	32,43	+2 m
3500	22,88	37,24	$34,56 \pm 1,37$	35,90	+1 m
4000	25,93	41,18	$38,33 \pm 0,79$	39,02	+1 m
5000	32,16	48,67	$45,58 \pm 0,70$	44,44	-2 m
6000	35,76	52,68	$49,52 \pm 0,75$	48,98	-1 m

schließlich zeigt, in welchem Fehlerbereich der Beobachtungs- die Erwartungswerte liegen. Aus dieser Spalte geht deutlich hervor, daß bei den niedrigsten Dosen eine systematische Abweichung auftritt und daß allgemein die Werte der 2. Versuchsgruppe sich schlechter anpassen. Während für die letztere Unstimmigkeit z. T. die Unterschiede in den Versuchsbedingungen (vgl. S. 409) verantwortlich gemacht werden können, müssen die Abweichungen vom Anfangsteil der Kurve, die sich in beiden Versuchsgruppen bemerkbar machen, eine andere Ursache haben. Diese ist zweifellos in der Festlegung des Nullpunktes gegeben. Durch B zug auf den korrigierten Kontrollwert von 50% wird diesem eine, statistische Genauigkeit gegeben, die er nicht hat, wenn auch klar ist daß seine Streuung geringer sein muß als die der übrigen Prozentwerte, bei denen durch die Bestrahlung eine zusätzliche Streuung bedingt wird. Durch den zu tief liegenden Nullpunkt ist also die in Abb. 8 eingetragene Kurve zu stark überkrümmt. Der ihr entsprechende Faktor k ist also zu groß und kann somit als der oberste Grenzwert angesprochen werden. Die durch ihn angegebene mittlere Bruchanzahl je X bei 1000 r beträgt 0,16.

Um eine Schätzung für den unteren Grenzwert zu erhalten, wurde ermittelt, bei welcher Lage des Nullpunktes die Versuchswerte sich möglichst gut einer Eintrefferkurve zuordnen lassen. Diese Berechnungen sind nur für die genauere 1. Versuchsgruppe durchgeführt worden. Es ergab sich, daß bei Korrektur auf einen Kontroll-♀-Prozentsatz von 48,44% ($= N_{\text{♀}}\% - 2,5\text{ m}\%$) die Versuchswerte dem Verlauf einer Eintrefferkurve weitgehend folgen. Tabelle 9 gibt die Prozentwerte des

Tabelle 9. Vergleich des ♀-Defizits mit der Eintreffer-Funktion $1 - e^{-kD}$.

Dosis in r	♀-Defizit in % \pm m-% bei Bezug auf $N_{\text{♀}} - 2,5\text{ m}$ der Kontrolle	Erwartet bei direkter Dosisproportionalität (Eintrefferkurve $k = 1,24 \cdot 10^{-4}$)	Fehlerbreite der ♀-Defizit-Werte, innerhalb derer die Erwartungswerte liegen
250	$2,98 \pm 0,97$	3,06	+ 1 m
500	$6,14 \pm 1,18$	6,02	- 1 m
750	$9,35 \pm 0,99$	8,89	- 1 m
1000	$10,47 \pm 1,00$	11,68	+ 2 m
1250	$14,58 \pm 0,86$	14,38	- 1 m
1500	$17,86 \pm 0,78$	16,99	- 2 m
1750	$21,73 \pm 0,74$	19,53	- 2 m
2000	$23,07 \pm 0,78$	21,99	- 2 m
2500	$27,96 \pm 0,67$	26,68	- 2 m
3000	$30,00 \pm 0,75$	31,10	+ 2 m
4000	$37,23 \pm 0,81$	39,14	+ 3 m
5000	$44,66 \pm 0,72$	46,26	+ 3 m
6000	$48,88 \pm 0,77$	52,52	+ >3 m

♀-Defizits wieder. Die Fehlerberechnung wurde wie für die gleichartigen Werte der Tabelle 8 vorgenommen. Die Erwartungswerte wurden erhalten, indem die verschiedenen ♀-Defizit-Prozente als Eintrefferwerte behandelt und aus ihnen ein Mittelwert für k , aus diesem dann die Erwartungswerte für die einzelnen Dosen berechnet wurden. Die rechte Spalte der Tabelle 9 zeigt, daß Beobachtung und Erwartung sich im Anfangsteil der Kurve gut decken. Im weiteren Verlauf machen sich aber systematische Abweichungen bemerkbar; im Bereich von 1500—2500 r liegen alle Beobachtungswerte über, von 3000—6000 r unter der Eintrefferkurve. Hierin zeigt sich die stärkere Krümmung der experimentellen Kurve an. Wegen dieser stärkeren Krümmung und wegen des bei der Berechnung angenommenen unwahrscheinlich niedrigen ♀-Prozentsatzes der Kontrolle ist also der der Eintrefferkurve entsprechende Faktor k zu niedrig und kann damit als unterster Grenzwert angesehen werden. Ihm entspricht eine mittlere Bruchanzahl im X-Chromosom von 0,124 bei 1000 r.

Damit ist die Bruchhäufigkeit des X eingengt auf den Bereich zwischen 0,12 und 0,16 je 1000 r und dürfte bei dem zwischen einer Eintrefferkurve und der Hyperbel liegenden Krümmungsverlauf der Beobachtungskurve, wenn dieser auch nicht genau zu ermitteln ist, zwischen 0,13 und 0,15 liegen.

Aus dem allgemeinen Verlauf der Beobachtungskurve geht somit hervor, daß die Grundannahme der Eintreffer-Auslösung eines Bruches richtig ist. Die Größe der ermittelten Bruchhäufigkeit zeigt außerdem, daß die Einzelbrüche die häufigste Strahlenreaktion im Genom darstellen; denn die ebenfalls an Spermien bestimmten Werte für Letalfaktor- und Vitalitätsmutationen sind etwa 0,03 bzw. 0,08.

e) Die Bruchhäufigkeit unter abgeänderten Bestrahlungsbedingungen.

Wenn die Häufigkeit der Einzelbrüche oder der Rekombinationsvorgang oder beide von der Art der Bestrahlung abhängen, so sind bestimmte Abänderungen des Verlaufes der Beobachtungskurve zu erwarten. Nimmt die Bruchhäufigkeit bei gleichbleibendem Anteil der Ein- und Mehrtrefferprozesse ab, so muß die Kurve bei unveränderter Form tiefer liegen. Bleibt die Bruchhäufigkeit gleich unter gleichzeitiger Abnahme der Mehrtreffervorgänge, so muß sie höher liegen und weniger stark gekrümmt sein. Das ergibt sich ohne weiteres aus den oben durchgeführten Ableitungen. Die unmittelbar zu beobachtenden ♀-Prozentsätze verhalten sich umgekehrt.

Als abgeänderte Bestrahlungsbedingungen kommen im wesentlichen zwei in Frage: verschiedene Wellenlänge und andere zeitliche Verteilung der Bestrahlung. Bei der Untersuchung der Letalfaktorauslösung hat die Einflußlosigkeit dieser beider Faktoren bekanntlich sehr wahrscheinlich gemacht, daß diese Mutationen in einer Umänderung innerhalb eines definierten Atomverbandes bestehen (vgl. ZIMMER und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, 1942).

Derartige Versuche sind am X^c-Chromosom bisher nur in geringem Umfange durchgeführt worden. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 10. Die Änderung der Wellenlänge von mittelharten zu sehr weichen Röntgenstrahlen (Grenzstrahlen¹) ist ohne Einfluß auf den ♀-Prozentsatz;

Tabelle 10. Das Geschlechtsverhältnis in der F₁ der Kreuzung *y w cv v* / × X^{c2}, *cv v* / nach P-♂♂-Bestrahlung unter variierten Bestrahlungsbedingungen.

Bestrahlungsart	Dosis in r	F ₁ Gesamt- anzahl	♀♂		Vergleichswerte aus Tabelle 4
			Anzahl	% ± m-%	
Grenzstrahlen	3000	17082	6757	39,56 ± 0,37	39,06 ± 0,27
Mittelharte Röntgenstrahlen, fraktionierte Verabfolgung	3 × 300	15847	7182	45,32 ± 0,40	45,99 ± 0,31 (875r) 45,49 ± 0,30 (1000r)
	4 × 300	17876	7982	44,65 ± 0,37	45,55 ± 0,28 (1125r) 44,24 ± 0,27 (1250r)
	12 × 500	3346	1013	30,27 ± 0,79	31,49 ± 0,35

¹ Für die Durchführung der Bestrahlung bin ich Herrn Dr. K. G. ZIMMER zu Dank verpflichtet.

der Unterschied zwischen den beiden Werten ist statistisch nicht bedeutungsvoll.

Zur Prüfung des etwaigen Einflusses eines Zeitfaktors wurden nur einige Versuche mit fraktionierter Bestrahlung vorgenommen, wobei die Teildosen im Abstand von 24 Stunden unter sonst dem Hauptversuch gleichen Bestrahlungsbedingungen verabfolgt wurden. Die unregelmäßigen Dosen 900 und 1200 r sind aus technischen Gründen (Abbruch der Versuche infolge Apparatstörung) zustande gekommen. Wie die Werte der Tabelle 10 zeigen, haben auch diese Versuche keinen Unterschied zwischen fraktioniert und kontinuierlich verabfolgter Dosis erkennen lassen. Es liegen die \bar{q} -Prozentwerte zwar niedriger als die der Vergleichswerte, wie es zu erwarten wäre, wenn infolge der Fraktionierung nur die Rekombinationen weniger würden. Jedoch tritt dieses bei dem 900 r-Versuch nur deshalb in Erscheinung, weil beide Nachbarwerte, wie sowohl Tabelle 8 wie 9 zeigen, zu hoch sind. Im übrigen sind aber diese Unterschiede sowohl bei 900 wie 6000 r auch nicht statistisch gesichert.

Obwohl diese Versuche an Umfang sehr gering sind, so sprechen sie doch dafür, daß das Chromosomenmutationsgeschehen von einer Variation der Bestrahlungsbedingungen unabhängig ist. Damit ist dann nicht nur ausgesagt, daß der primäre Bruch direkt ausgelöst wird, sondern auch, daß der Rekombinationsvorgang selbst nicht beeinflußt wird. Dieses Ergebnis kann nur so gedeutet werden, daß die Rekombination überhaupt nicht innerhalb des von der Bestrahlung erfaßbaren Zeitabschnittes erfolgt. Die induzierten Einzelbrüche müssen demnach in rekombinationsfähigem Zustand erhalten bleiben, bis zu einem späteren Zeitpunkt, bei der Vorkernbildung nach der Befruchtung, ihre wechselseitige Rekombination eintritt (s. auch weiter unten).

III. Die Entstehung der Chromosomenmutation im Lichte der neuen Ergebnisse.

1. Die Dosisabhängigkeit der Mehr-Bruch-Rekombinationen.

Untersuchungen über die Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen sind in den letzten Jahren zahlreich durchgeführt worden. Fast allgemein wird die STADLERSche Bruchhypothese den Deutungen zugrunde gelegt, nach der die Mehr-Bruch-Mutationen auf einzeln angelegte, sich nachträglich zu zwei oder mehreren untereinander rekombinierende Brüche zurückgehen (vgl. Mitt. I). Als Beweismaterial dienen bei dieser Zustimmung zu der Bruchhypothese in erster Linie die Ergebnisse über die Dosisproportionalität; unter der Annahme, daß die Einzelbrüche durch einen Treffer, also direkt proportional zur Dosis ausgelöst werden, sind die Translokationen, Inversionen und andere Zwei-Bruch-Mutationen als Zweitreffereignisse aufzufassen und müssen deshalb in einer quadratischen Beziehung zur Dosis auftreten.

Nach dem Material und seiner Auswertung sondern sich diese Untersuchungen in zwei Gruppen: 1. Analysen an Pollenzellkernen (über andere Zellarten vgl. den nächsten Abschnitt), 2. Analysen an auf bestrahlte Spermienkerne zurückgehenden Nachkommenschaften von *Drosophila melanogaster*.

In der ersten Gruppe erlaubt die cytologische Untersuchung der Mitose nach Bestrahlung der vorangegangenen Interphase nicht nur das Vorhandensein oder Fehlen einer bestimmten Mutation, sondern auch — bei nicht zu hohen Dosen — die Anzahl der Mutationen je Kern festzustellen. Die Dosisproportionalität kann somit auf verschiedene Weise abgegeben werden: Entweder wird die Häufigkeit der eine bestimmte Mutationsart, z. B. Translokationen, aufweisenden Einheiten (Kerne u. a.) bestimmt ohne Rücksicht darauf, ob die Mutation einmal oder mehrere Male in der gleichen Einheit vorkommt; man erhält so Dosisproportionalitätskurven von der Art der theoretischen Trefferkurven, bei denen die Häufigkeit der mutierten Einheiten infolge des „Sättigungseffektes“ (des Auftretens mehrerer gleichartiger Mutationen in derselben Einheit) zwischen 0 und 1 liegt. Oder es wird die Häufigkeit der untersuchten Mutationen unmittelbar angegeben, wobei Häufigkeiten > 1 gefunden werden können, die Sättigung also zum Teil ausgeschaltet wird. Die nach diesem seit SAX (1938) üblichen Verfahren erhaltenen Dosisproportionalitätskurven werden nicht als Trefferkurven, sondern als Exponentialkurven von der Art $B = (D/K)^p$ angegeben, wobei B die Mutationshäufigkeit, D die Dosis, $1/K$ eine Mutationskonstante und p den Dosisproportionalitätsexponenten darstellen.

Die Beziehungen derartiger Exponentialkurven zu den Trefferkurven, die von den sie verwendenden Untersuchern nicht genau diskutiert worden sind, sind bei Eintreffer-Ereignissen einfach. Die Eintreffer-Kurve

$$y_1 = 1 - e^{-kD} = e^{-kD} \cdot kD \left[1 + \frac{kD}{2!} + \frac{(kD)^2}{3!} + \dots + \frac{(kD)^{n-1}}{n!} \right]$$

wird, wenn man die die Mehrtreffer-Ereignisse zusammensetzenden Einzelereignisse vollständig, also ein Zweitreffer- als 2 Eintreffer-Ereignisse usw., erfassen, die Sättigung somit ausschalten kann, zu

$$y_1 = e^{-kD} \cdot kD \left[1 + \frac{2}{2!} kD + \frac{3}{3!} (kD)^2 + \dots + \frac{n}{n!} (kD)^{n-1} \right] \\ = e^{-kD} \cdot kD \cdot e^{kD} = kD.$$

In diesem Fall wird bei $B = (D/K)^1$ der Proportionalitätsfaktor $1/K = k$.

Komplizierter ist die Beziehung bei Zwei- und Mehrtreffer-Ereignissen. Bei der Zweitrefferkurve

$$y_2 = 1 - e^{-kD} \left(1 + kD \right) \\ = e^{-kD} \cdot \frac{(kD)^2}{2} \left[1 + \frac{2}{3!} kD + \frac{2}{4!} (kD)^2 + \dots + \frac{2}{n!} (kD)^{n-2} \right].$$

wie sie für die häufigsten Chromosomenmutationen gelten muß, ist es denkbar, die auf 4 und mehr Treffer zurückgehenden Ereignisse in 2 und mehr Zwei- bzw. Dreitreffer-Ereignisse aufzulösen. Es ergäbe so ein Dreitreffer-Ereignis 1 Mutation, ein Viertreffer-Ereignis 2 Mutationen, ein Fünftreffer-Ereignis 2 Mutationen, ein Sechstreffer-Ereignis 3 Mutationen usw. Gegenüber der umgeformten Zweitrefler-Beziehung

$$y_2 = \frac{(kD)^2}{2} \left[1 - \frac{2}{3} kD + \frac{3}{3 \cdot 4} (kD)^2 - \frac{4}{3 \cdot 4 \cdot 5} (kD)^3 + \dots \right]. \quad (10)$$

ergibt sich dann bei einer derart vorgenommenen teilweisen Ausschaltung der Sättigung durch Auflösung der Mehrtreffer-Ereignisse die Beziehung

$$y_2 = \frac{(kD)^2}{2} \left[1 - \frac{2}{3} kD + \frac{2^2}{3 \cdot 4} (kD)^2 - \frac{2^3}{3 \cdot 4 \cdot 5} (kD)^3 + \dots \right]. \quad (11)$$

Beide Gleichungen unterscheiden sich nur geringfügig; beide ergeben eine quadratische Dosisproportionalität nur bei einem so kleinen kD , daß das 2. Glied des Klammersausdruckes vernachlässigt werden kann, also nur in den untersten Kurvenbereichen. Hier stehen die Mutationskonstanten in der Beziehung $1/K = k/\sqrt{2}$, wenn y_2 mit B gleichgesetzt wird. Für andere Dosisproportionalität gilt allgemein $1/K = (p!)^{-1/p} \cdot k$. Diese Beziehung gilt nicht für die Arbeiten der SAX-Schule, die mit B nicht die Häufigkeit der Mehrbruch-Mutationen, sondern der sie zusammensetzenden Brüche bezeichnet. Hier ist $1/K = [(p-1)!]^{-1/p} \cdot k$, also bei Zwei-Bruch-Mutationen $1/K = k$.

Für höhere Werte von kD ergibt sich aus beiden Gleichungen ein Sättigungseffekt von nur etwas verschiedenem Ausmaß. Tatsächlich aber behalten die Dosisproportionalitätskurven von SAX u. a. die anfängliche Proportionalität auch bei höheren Mutationshäufigkeiten bei. Diese Tatsache kann ihre Erklärung nur darin finden, daß es sich bei den mehrfachen Chromosomenmutationen in einem Kern meistens um Mutationen in verschiedenen Rekombinationsbereichen handelt. Je geringer beweglich die Einzelbrüche sind, um so seltener werden 2, noch seltener 3 Brüche an einem Ort des Kernes (Rekombinationsbereich) zusammentreffen, um so verhältnismäßig häufiger aber mehrere Orte mit 2 Brüchen vorkommen. Die mathematische Formulierung dieser Situation als alleiniger Funktion der modalen Beweglichkeit des Einzelbruches fehlt zwar noch, doch kann man unter der vereinfachenden Annahme von voneinander scharf abgegrenzten, gleich großen Rekombinationsbereichen, also Teilvolumina des Kernes ein Bild des Einflusses der beschränkten Beweglichkeit der Brüche gewinnen. Sind in einem Kern r Rekombinationsbereiche (in Mitt. I wurde die Bezeichnung k statt r verwendet) vorhanden, so ergibt sich die Häufigkeit der verschiedenen möglichen Mutationen und Mutationskombinationen aus dem Polynom

$$1 = e^{-rkD} \left[1 + kD + \frac{(kD)^2}{2!} + \dots + \frac{(kD)^n}{n!} \right]^r.$$

Ohne die aus diesem Polynom zu erhaltenden Häufigkeiten für einzelne und mehrfache Zweibruch-Mutationen im einzelnen anzuführen, genügt zunächst die folgende Überlegung: Mutierende Einheit ist in diesem Falle der Rekombinationsbereich, der aber nicht selbständig erfaßt werden kann. Die gleichen Kurven, wie sie sich aus dem Polynom ergeben, würde man erhalten, wenn man selbständige Mutationseinheiten, die jede einen Rekombinationsbereich darstellen, zufallsgemäß zu Gruppen aus r Einheiten zusammenfaßte und dann die Gruppenmutabilität angäbe. Wenn dann in jeder Mutationseinheit nur Ein- oder Zwei-Bruch-Ereignisse vorkämen, kD also niedrig wäre, so würde die Gruppe aus r Einheiten nur dieselben Bruchereignisse einzeln oder zu mehreren kombiniert in den durch r bestimmten Häufigkeitsverhältnissen ausweisen. Das Ergebnis ist dasselbe, das man bei einfacher Multiplikation der Mutationsprozente der einzelnen Mutationseinheit mit r erhält. Um die richtige Beziehung zum Ordinatenmaßstab in diesem Fall wiederherzustellen, müßte dieser durch r dividiert werden; die Einheit der Ordinate, die bei $r = 1$ die obere Häufigkeitsgrenze darstellt, wird damit zu $1/r$. Auf diese Weise ergibt sich dann wieder die Mutationshäufigkeit für die einzelne Mutationseinheit. Eine quadratische Dosisbeziehung noch bei höherer Mutationshäufigkeit besteht also nur solange, wie im Rekombinationsbereich praktisch keine Dreitreffer-Ereignisse vorkommen und die Anzahl der Rekombinationsbereiche in der Einheit groß ist.

Das läßt sich folgendermaßen auch formal nachweisen. In dem angeführten, etwas verändert geschriebenen Polynom

$$e^{-rkD} \cdot \left[(1 + kD) + \frac{(kD)^2}{2} \left(1 + \frac{kD}{3} + \frac{(kD)^2}{12} + \dots \right) \right]^r = 1$$

sind die Null- und Eintreffer-Fälle, also die Fälle, bei denen in keinem Rekombinationsbereich mehr als 1 Treffer vorkommt, durch $e^{-rkD} \cdot (1 + kD)^r$ gegeben. Es ist dann die für alle Fälle, in denen in mindestens einem Rekombinationsbereich mindestens 2 Treffer vorliegen, gültige Zweitreffer-Formel

$$y_2 = 1 - e^{-rkD} (1 + kD)^r \quad (12)$$

oder als Summe der Zwei- und Mehrtreffer-Fälle

$$y_2 = e^{-rkD} \sum_{s=1}^r s \binom{r}{s} (1 + kD)^{r-s} \cdot \left[\frac{(kD)^2}{2} \left(1 + \frac{kD}{3} + \frac{(kD)^2}{12} + \dots \right) \right]^s.$$

Lassen sich die Zwei- und Mehrtreffer-Ereignisse der verschiedenen Rekombinationsbereiche getrennt erfassen, so wird

$$y_2 = e^{-rkD} \sum_{s=1}^r s \binom{r}{s} (1 + kD)^{r-s} \cdot \left[\frac{(kD)^2}{2} \left(1 + \frac{kD}{3} + \frac{(kD)^2}{12} + \dots \right) \right]^s.$$

Durch Ausmultiplikation ergibt sich hieraus

$$y_2 = r \cdot \frac{(kD)^2}{2} \left(1 - \frac{2}{3} kD + \frac{3}{12} (kD)^2 - \frac{4}{60} (kD)^3 + \dots \right). \quad (13)$$

Wenn weiterhin, wie oben — Gleichung (11) — auch die Mehrtreffer-Ereignisse innerhalb eines Rekombinationsbereiches noch in Zwei- oder Dreitreffer-Ereignisse auflösbar sind, so würde

$$y_2' = r \cdot \frac{(kD)^2}{2} \left(1 - \frac{2}{3} kD + \frac{2^2}{12} (kD)^2 - \frac{2^3}{60} (kD)^3 + \dots \right) \quad (14)$$

werden. Auch diese Gleichungen geben eine quadratische Beziehung nur dann, wenn kD gegen 1 vernachlässigt werden kann, doch wird der Kurvenmaßstab gegenüber der Ordinate um das r -fache gesteigert. Diese Formeln beweisen die oben allgemein abgeleitete Beziehung: Je größer r ist, um so höher ist die mittlere Mutationshäufigkeit je Kern, bis zu der sich noch keine nennenswerte Abweichung von einer quadratischen Dosisproportionalität bemerkbar macht. Die SAXschen Proportionalitätskurven sind somit im wesentlichen nichts anderes als die unteren Abschnitte von Trefferkurven, die in einem (durch r bestimmten, meist unbekannten) vergrößerten Maßstab dargestellt werden.

Um die empirischen Kurven mit theoretischen zu vergleichen, könnten nach den vorstehenden Formeln Kurvenscharen berechnet werden. Da r aber auch einen Einfluß auf die Form der Zweitreyer-Kurven hat, kann das experimentelle Material nach Art der Trefferanalysen ausgewertet werden, braucht also nur auf die Häufigkeit der mutierten Kerne hin analysiert zu werden, was besonders bei höheren Dosen Vorteile bieten kann. Beispiele für die Umformung der Zweitreyer-Kurve (12) mit wachsendem r sind in Tabelle II wiedergegeben. Sie zeigen, daß mit

Tabelle II. Einfluß der Anzahl der Rekombinationsbereiche r auf den Verlauf der Zweitreyer-Kurve $y_2 = 1 - [e^{-kD} (1 + kD)]^r$ und Vergleich mit der Dreitreffer-Kurve $y_3 = 1 - e^{-kD} \left(1 + kD + \frac{(kD)^2}{2} \right)$.

Mindestanzahl der Treffer in mindestens einem Rekombinationsbereich n	Anzahl der Rekombinationsbereiche r	Mittlere Bruchhäufigkeit in einem Rekombinationsbereich k	Mittlere Bruchhäufigkeit in der aus r Rekombinationsbereichen bestehenden Einheit $r \cdot k$	Mutierte Einheiten in % bei der relativen Dosis				
				0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
2	1	1,6785	1,679	4,52	14,59	26,68	38,82	50,00
	2	1,0780	2,156	3,99	13,53	25,62	38,19	
	5	0,6229	3,115	3,52	12,49	24,50	37,49	
	10	0,4199	4,199	3,28	11,93	23,85	37,06	
	20	0,2869	5,738	3,12	11,52	23,37	36,73	
	50	0,17588	8,794	2,95	11,10	22,85	36,35	
	100	0,12246	12,246	2,90	10,97	22,69	36,28	
3	1	2,674	2,674	1,72	9,35	21,78	36,09	

zunehmendem r sich die Zweitrefter- der Dreitrefter-Kurve für $r = 1$ nähert, ohne allerdings den besonders im Anfangsteil derselben verzögerten, nahezu der 3. Potenz folgenden Anstieg zu zeigen. Wenn auch diese Formeln und die von ihnen abgeleiteten Kurven unter der Annahme getrennter Rekombinationsbereiche gewonnen sind und diese Annahme nur in erster Annäherung den wirklichen Bedingungen im Kern entspricht, so ist doch der so erhaltene Zusammenhang zwischen Steilheit der Kurven und Rekombinationsfreiheit, zweifellos richtig. Je eingeschränkter die Beweglichkeit der Brüche ist, um so steiler verläuft die Zweitrefter-Kurve.

Nach diesen Vorbemerkungen seien die Ergebnisse kurz besprochen. Die durch die Pollenzellanalysen erhobenen Befunde sind recht einheitlich. Für eindeutige Zwei-Bruch-Mutationen lassen sich Dosisproportionalitätsexponenten von $p \sim 2$ dann nachweisen, wenn in den Versuchen die einzelnen Dosen in gleicher Bestrahlungszeit, also unter mit der Dosis steigender Intensität verabfolgt worden sind. Für bizentrische und Ringchromosomen, also inter- und intrachromosomale Translokationen nach chromosomalen Brüchen findet SAX (1940) bei *Tradescantia* die Beziehung $B = (D/107)^{2.0}$. RICK (1940) teilt für dieselben Mutationen gleichartige p -Werte mit: 1,94, 2,10 und 1,97 in verschiedenen Serien. Für chromatidale Translokationen gibt SAX die Beziehung $(D/67)^{1.9}$ an, für lange interkalare Deletionen RICK $(D/347)^{1.9}$. Auch MARQUARDT (1942) findet bei *Bellevalia romana* eine rein quadratische Dosisproportionalität für die Summen aller erfassbaren Mehrbruch-Mutationen, wobei sich der Wert $(D/76)^{2.0}$ ergibt; der mit dem von SAX vergleichbare Wert beträgt dann $(D/54)^{2.0}$, da MARQUARDT nicht die Zahl der Einzelbrüche, sondern der Rekombinationen zählt. In ähnlichen Untersuchungen findet NEWCOMBE (1942) für Ring- und bizentrische Chromosomen kleinere Werte ($p = 1,83$ bzw. 1,40), doch sind die Ergebnisse NEWCOMBEs nur unter Zusatzannahmen mit den übrigen in Einklang zu bringen (siehe auch weiter unten). Wird nicht, wie in den bisher besprochenen Versuchen, die Zeit der Bestrahlung, sondern die Intensität konstant gehalten, also die Bestrahlungszeit mit der Dosis gesteigert, so finden sich allgemein niedrigere Exponenten von $p \sim 1,5$. SAX (1938) fand bei bizentrischen und Ringchromosomen die Beziehung $(D/80)^{1.5}$. THODAY (1942) erhielt für die Chromatidentranslokationen ein $p = 1,62$. Die Werte bei NEWCOMBE liegen wiederum tiefer. Für diese allgemeine Senkung von p hat SAX (1939, 1940) die verhältnismäßig kurze Zeit, in der ein Bruch rekombinationsfähig bleibt, verantwortlich gemacht. Bei höheren Dosen steht im Vergleich zu niedrigeren während der längeren Bestrahlungszeit nur eine geringere als die dosisproportionale Bruchanzahl für die Rekombination zur Verfügung, da ein zeitproportionaler Anteil infolge Wiedervereinigung der Bruchenden oder „Ausheilung“ verschwindet. Es handelt sich hierbei also nur um eine sekundäre Änderung des ursprünglichen Exponenten $p = 2$.

Aus den angeführten Versuchen lassen sich Angaben über die Größe von r nur sehr allgemein machen. Die quadratische Dosisproportionalität ist bis zu einer mittleren Häufigkeit von 0,6 je Kern bei chromosomalen Translokationen von *Tradescantia* (SAX, 1940) und von sogar 1,3 je Kern bei allen Mehr-Bruch-Mutationen von *Bellevalia* (MARQUARDT 1942a) angegeben worden. Die höchsten beobachteten Werte liegen dabei etwas unter den Erwartungswerten, doch nicht so erheblich, daß sich hieraus schon eine Sättigungswirkung von nennenswertem Umfang ergeben würde. Deshalb muß aus den Daten, die allerdings noch der genaueren Festlegung bedürfen, auf eine Anzahl der Rekombinationsbereiche von der Größenordnung 50–100 geschlossen werden, ein Wert, der bei der engen Packung und der dadurch bedingten geringen Beweglichkeit der Chromosomen zumal innerhalb der durchschnittlichen Rekombinationszeit der Brüche in den Interphasekernen auch gut vorstellbar ist.

Die Untersuchung der Mehr-Bruch-Mutationen bei *Drosophila melanogaster* ist in ihrer Auswertung dadurch erschwert, daß den Analysen stets nur ein vom Experiment selbst verändertes Gesamtmaterial zugrunde gelegt werden kann. Gleichgültig ob die induzierten Verlagerungen cytologisch in der F_1 oder genetisch in der F_2 festgestellt werden, stets umfaßt das Material nur den überlebenden Teil der von den bestrahlten Gameten stammenden F_1 -Zygoten. Dieser überlebende Anteil stellt nun kein Zufallskollektiv mehr dar; denn das Absterben ist, wie auch oben (S. 415) näher gezeigt, mindestens zum Teil durch bestimmte Chromosomenmutationen bedingt. Aus diesem Grunde genügt es für den hier behandelten Zusammenhang aufzuzeigen, daß die Dosisabhängigkeit dem allgemeinen Charakter der Mehrtreffer-Vorgänge entspricht.

Im einzelnen sind die Untersuchungen schon in der Mitt. I angeführt worden. Es genügt hier, zwei Arbeiten nachzutragen. Die durch Analyse der Speicheldrüsenchromosomen gewonnenen Ergebnisse von DUBININ, KHVOSTOVA und MANSUROVA (1941) stellen eine volle Bestätigung der Befunde von BAUER (Mitt. I) dar. Die absoluten Mutationsprozentsätze sind bei DUBININ und Mitarbeitern zwar etwas andere, was wohl mit nicht sehr genauer Dosismessung zusammenhängt, doch ist der Verlauf der Mutationskurve auch bei ihnen eindeutig nicht linear oder logarithmisch, so daß die Angaben von CATCHESIDE (1938) auch von zweiter Seite widerlegt worden sind¹.

Für genetisch erfaßte Chromosomenmutationen ist zu den in Mitt. I genannten eine eingehende Untersuchung von MÜLLER (1940) hinzu-

¹ Die Erörterungen von THODAY (1942) über die Möglichkeit, daß auch bei Röntgenbestrahlung die Auslösung von Chromosomenmutationen durch einen Treffer erfolgt, wobei als Treffer eine Ionisationsbahn angenommen wird, stützen sich auf die Angaben CATCHESIDES und sind somit gegenstandslos.

gekommen, in der besonders die in der F_2 feststellbaren Translokationen berücksichtigt sind. Für diese gibt MULLER einen Dosisproportionalitätsexponenten $p = 1,42$ an. Von ähnlicher Größe ist der Exponent, der für die Gruppe der in F_1 erfaßbaren Chromosomenmutationen: lange X-Deletionen, Verlagerungen mit *mottled*-Wirkung und *ci*-Verlagerungen (für diese s. unten) berechnet werden kann; auch er liegt unter 1,5. MULLER faßt diese Ergebnisse als „ $3/2$ power rule“ zusammen. Diese Angabe bedeutet, daß es sich bei diesen Mutationen um Mehrtreffer-Ereignisse handelt. Da in den Versuchen nicht die Einzelmutationen (Kontaktpunkte in der Definition der Mitt. I) erfaßt werden, sind die genannten Exponenten natürlich nicht mit den bei Pollenzellen abgeleiteten vergleichbar; vielmehr müssen die Experimentaldaten mit Trefferkurven verglichen werden. Ein solcher Vergleich zeigt, daß die Beobachtungskurven flacher verlaufen als Zweitreffter-Kurven. Bei einer Zweitreffter-Kurve würde zu dem 1000 r-Wert MULLERS von 1,16% für Translokationen ein 4000 r-Wert von 13,52% (an Stelle der beobachteten 8,30%) gehören. Auch zwischen diesen Werten besteht natürlich keine quadratische Beziehung, sondern der Dosisanstieg folgt, wenn man es so berechnen will, einem Exponenten von 1,78. Bedeutung haben solche Exponenten immer nur für ein bestimmtes Wertepaar. Es ist ja klar, daß bei einer Zweitreffterkurve der Exponent von $p = 2$ bei den niedrigsten Mutationsprozenten bis zu $p = 0$ bei den höchsten abnehmen muß. Auch bei MULLER gilt die „ $3/2$ power rule“ eben nur zwischen 1000 und 4000 r — und auch hier nicht genau! Zwischen 375–400 r und 1500 r findet MULLER einen höheren Exponenten, $p = 1,8$. Das entspricht der Erwartung, wenn auch im einzelnen die Berechnungen MULLERS unsicher sind, da er stets den Mutationsprozent der höheren Dosis unmittelbar als Bezugswert verwendet. MULLER hat seine frühere Deutung (1938), der Exponent käme daher, daß ein Teil der Translokationen Eintreffter-, ein anderer Zweitreffter-Ereignisse darstelle, jetzt aufgegeben und erklärt — im Sinne der Begründung in Mitt. I — den flacheren Verlauf der Beobachtungskurve mit der höheren Sterblichkeit der besonders bei hohen Dosen auftretenden Mehr-Bruch-Mutationen und Mutationskombinationen.

Ob es sich bei diesen den Beobachtungskurven zugrunde liegenden Mehrtreffer-Kurven um reine Zweitreffter-Kurven oder um durch das Vorkommen einer größeren Anzahl von Rekombinationsbereichen modifizierte Kurven handelt, ist noch nicht zu entscheiden. Vergleicht man die Mutationskurve der Mitt. I (Abb. 1) unmittelbar mit Treffer-Kurven, so ergibt sich, daß sie zwischen einer Zwei- und einer Dreitreffer-Kurve verläuft¹. Durch Berücksichtigung der letalen Mehr-Bruch-Mutationen würde sie noch etwas steiler verlaufen. Hieraus könnte ebenso wie aus der

¹ BAUER: Verh. internat. Vererb.-Kongr. Edinburgh 1939.

quadratischen Proportionalität der Kontaktpunkte (Mitt. I, Abb. 2) auf eine höhere Anzahl von Rekombinationsbereichen geschlossen werden; doch steht dem entgegen, daß nach dem Verhältnis der Zwei- zu den Drei- und Mehr-Bruch-Mutationen eher eine geringe Anzahl von Rekombinationsbereichen zu erwarten ist (Mitt. I). Zur Aufklärung dieser Unstimmigkeit bedarf es weiterer Analysen.

Allgemein stimmen jedenfalls alle Beobachtungen an Pollenzellen wie an *Drosophila* soweit überein, daß Mehr-Bruch-Mutationen auf (mindestens) 2 unabhängige Ereignisse zurückgehen und daß, um die unmittelbar zu beobachtende oder verkappte quadratische Dosisproportionalität zu erklären, angenommen werden muß, daß diese Einzelereignisse, die Einzelbrüche, auf je einen Treffer zurückgehen. Immerhin könnte, wenn lediglich diese Dosisproportionalität bekannt wäre, die Übereinstimmung mit den Voraussagen der Bruchhypothese noch zufällig sein. Auch Deutungen auf dem Boden der Kontakthypothese wären dann noch denkbar. Diesen ist allerdings durch zusätzliche Tatsachen schon der Boden entzogen, in erster Linie durch den Nachweis, daß mit steigender Dosis die Anzahl der an einem Kontaktpunkt beteiligten Brüche wächst (Mitt. I). Trotzdem blieb es wichtig, den unmittelbaren Nachweis zu führen, daß die von der Bruchhypothese geforderten Einzelbrüche Eintreffer-Ereignisse darstellen.

2. Die Dosisabhängigkeit des Einzelbruches.

Die methodischen Wege, den Einzelbruch zu erfassen, sind mannigfacher als bei den Mehr-Bruch-Mutationen.

Die unmittelbare cytologische Untersuchung der Mitose zeigt Chromosomen- und Chromatidenbrüche, die als achromatische Lücken oder echte Querbrüche auftreten können. Während sich die Chromatidenbrüche auf eine Spalthälfte beschränken, erfassen die Chromosomenbrüche beide Chromatiden auf gleicher Höhe. Chromatidenbrüche sind nur als offengebliebene Brüche feststellbar. Dagegen können die Chromosomenbrüche bei bestimmter Vereinigungsart der Chromatidenbruchenden (in der Art der oben in Abb. 3 rechts gezeigten rückläufigen Rekombinationen) auch als wieder geschlossene Einzelbrüche erfaßt werden.

Dosisabhängigkeitsbestimmungen sind an Pollenzellen für die verschiedenen Brucharten einzeln oder gemeinsam gemacht worden. Für Chromatidenbrüche bei *Tradescantia* ergibt sich aus den Befunden von THODAY ein Proportionalitätsexponent < 1 . Offene Chromosomenbrüche, die terminale Deletionen ergeben, stehen — ebenfalls bei *Tradescantia* — nach RICK in der Dosisbeziehung $(D/1830)^{1,0}$. Für alle Arten von Einzelbrüchen unter Einschluß der rückläufigen Einbruch-Rekombinationen findet MARQUARDT (1942a) bei *Bellevalia* eine Dosiskurve, die im Anfangsteil etwa direkt proportional zur Dosis ansteigt, sich dann aber, ähnlich wie bei den Beobachtungen von THODAY, aber noch früher und

stärker, abflacht. Auch hier liegt ein Proportionalitätsexponent ~ 1 im Anfangsteil vor, der aus nicht klar ersichtlichen Gründen bald unter 1 sinkt. Diese Angaben stimmen also mit der Annahme von der Eintreffer-Beziehung des Einzelbruches überein.

In sehr klarer Weise findet sich hierfür eine weitere Bestätigung in der Analyse CREIGHTONS (1941) an Embryonalzellen, Spermatogonien und Spermatocyten von *Chorthippus longicornis*. Da sie nicht die Einzelbrüche selbst, sondern die Anaphasen mit Einzelbrüchen bestimmt hat, ergeben sich für die Dosisabhängigkeit der Brüche Eintrefferkurven: für Embryonalzellen $y_1 = 1 - 0,96 \cdot e^{-0,116D}$, für Spermatogonien $y_1 = 1 - 0,97 \cdot e^{-0,120D}$ und für Spermatocyten $y_1 = 1 - 0,97 \cdot e^{-0,018D}$, von denen die ersten beiden im Rahmen der Versuchsgenauigkeit identisch sind (die Faktoren 0,96 und 0,97 beruhen auf der Spontanbruchhäufigkeit, für die die Bestrahlungswerte nicht korrigiert wurden). In dieser Untersuchung ist die direkte Dosisproportionalität auch für sehr hohe Bruchanzahlen (bis $y_1 = 60\%$) nachgewiesen worden. Schon früher hat MARSHAK (1937) für verschiedene Objekte (*Lens esculentum*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Allium cepa* und *Mus musculus*) gezeigt, daß die Häufigkeit gestörter Anaphasen durch Eintrefferkurven wiedergegeben werden kann. Allerdings fehlt hier die genaue cytologische Beschreibung.

Noch nicht klar beurteilt werden können die bisherigen Untersuchungen an bestrahlten Pollenmutterzellen (MARSHAK 1936, DA CAMARA, 1940), da auch bei ihnen die verschiedenen Chromosomenmutationen nicht eindeutig genug gekennzeichnet sind. Es liegt sicher ein Gemisch von Ein- und Zwei-Bruch-Mutationen vor.

Während in den angeführten Arbeiten von MARQUARDT und CREIGHTON die nur wenig häufigen rückläufigen Einbruch-Rekombinationen mit einbezogen worden sind, führt die Analyse von ihnen allein nicht zu einem so klaren Ergebnis. SAX gibt für sie bei *Tradescantia* die Dosisbeziehung $(D/45)^{1,1}$, also nahezu lineare Proportionalität an. Einen höheren Exponenten $p = 1,24$ findet dagegen THODAY. Diese Erhöhung gegenüber dem für Einzelbrüche erwarteten $p = 1$ kann in diesen beiden Fällen darauf zurückgeführt werden, daß nicht alle derartigen Rekombinationen auf einen Treffer zurückgehen, der beide Chromatiden äquikal betrifft, sondern daß ein Teil von ihnen auf zwei unabhängig voneinander in beiden Chromatiden ausgelöst, gegebenenfalls inäquikal Brüche beruht, also Zweitreffer-Ereignisse darstellt. Allerdings besteht dann zwischen den Angaben von SAX und THODAY ein erheblicher Unterschied. Denn die Versuche von THODAY sind unter gleichbleibender Bestrahlungsintensität der verschiedenen Dosen durchgeführt worden; sein Wert müßte also, entsprechend den im vorigen Abschnitt angegebenen Befunden auf etwa 1,5 erhöht werden, um mit dem von SAX vergleichbar zu sein. Dann aber ist der Anteil der Zweitreffer-Fälle unter diesen Rekombinationen in beiden Untersuchungen recht verschieden.

Noch weniger eindeutig schließlich ist eine andere Gruppe von Chromosomenmutationen. RICK hat als erster die sehr kleinen kugelförmigen Deletionsfragmente untersucht, die nach Bestrahlung von ungespaltenen Chromosomen in der anschließenden Mitose paarweise auftreten. Aus der Tatsache, daß sie nie die Satelliten trugen, ergab sich, daß es sich um interkalare Deletionen handelt. Sie sind infolge der Vereinigung beider Bruchenden ringförmig und erscheinen als Kugeln, weil mit der Kontraktion das Ringlumen verschwindet. Diese Ringnatur der „minute fragments“ ergibt sich auch daraus, daß sie in der Mehrzahl als Fragmentpaare erhalten bleiben, also keine freien Bruchenden aufweisen, an denen sie sich zu einem gemeinsamen Fragment vereinigen könnten (NEWCOMBE, 1942b). Aus der Dosisabhängigkeit, die RICK als $(D/133)^{1.58}$ angibt, schließt er, daß in diesen Mutationen ein Gemisch von Ein- und Zweitreffer-Fällen vorläge, wobei also, ähnlich wie bei den Chromosomenbrüchen durch bereits gesplante Chromosomen, durch einen Treffer auch 2 Brüche ausgelöst werden könnten. Hier lassen sich die Befunde von FABERGÉ (1940a) anreihen, der für die meistens wohl zu derselben Mutationsklasse gehörigen „supernumerary chromosome bodies“ zwar eine direkte Dosisproportionalität angibt, aus dessen Material aber RICK und NEWCOMBE Dosisexponenten von 1,7–1,8 berechnen. Gegenüber dem Exponenten von RICK (1,58) für die kleinen Deletionen ist der Vergleichswert von NEWCOMBE $p = 2,07$ und liegt damit schon höher als die entsprechenden Werte für eindeutige Zweibruch-Mutationen (Ringchromosomen $p = 1,83$, bizentrische Translokationen $p = 1,40$ nach NEWCOMBE). Das hohe p für die „minute fragments“ wird nun aber noch übertroffen durch NEWCOMBEs Wert für einfache Fragmentationen (offene Chromosomenbrüche, die zu terminalen Deletionen führen) von $p = 2,56$. Demnach hätte der Einzelbruch den höchsten Proportionalitätsexponenten. Diese Angaben stören das sonst einigermaßen einheitliche Bild, fordern aber keineswegs, daß die zugrunde liegende Hypothese von der Eintrefferauslösung des Bruches aufgegeben werden muß, sondern weisen auf sekundäre Einflüsse hin, die die Auswertung der unmittelbar erfaßbaren Brüche erschweren. Diese machen sich schon darin bemerkbar, daß bei NEWCOMBE im Gegensatz zu den allerdings nur sehr wenig umfangreichen Daten von SAX (1938) die Dosisproportionalität von der Art der Bestrahlungsverabfolgung abhängig ist. Bei zeitproportionaler, intensitätsgleicher Bestrahlung in den verschiedenen Dosen sinkt der Proportionalitätsexponent für die zu terminalen Deletionen führenden Einzelbrüche von 2,56 auf 2,11. Zur Deutung dieses abweichenden Tatbestandes nimmt NEWCOMBE an, daß mit steigender Dosis der Rekombinationsvorgang gehemmt wird, wodurch in zunehmendem Maße offene Brüche übrigbleiben, und daß dieser Hemmungs Vorgang selbst von der Art der Dosisverabfolgung abhängig ist. Es ist klar, daß mit der Zunahme offener Brüche

gleichzeitig eine Senkung des Proportionalitätsexponenten für die echten Zweitreffervorgänge bedingt wird, wie sie NEWCOMBE auch in seinen Experimenten findet. Er erklärt die Tatsache, daß die oben angeführten Untersucher nicht einen derartigen Hemmungseffekt feststellen konnten, mit den verhältnismäßig niedrigeren Dosen, die in deren Versuchen im Unterschied zu seinen angewandt worden sind. Jedenfalls lassen seine Ergebnisse erkennen, daß die Analyse der offen gebliebenen Brüche nicht unbedingt ein zutreffendes Bild von den Auslösungsbedingungen des Einzelbruches gibt; doch lassen sich Zweifel an der Deutung des Einzelbruches als Eintreffereignis auch nicht begründen.

In den F_1 - oder F_2 -Analysen an *Drosophila melanogaster* beruhen die Versuche, den Einzelbruch zu erfassen, zu einem Teil ebenfalls auf der Feststellung der Häufigkeit offengebliebener oder rückläufig vereinigter chromosomaler Einzelbrüche nach der Art der Abb. 3. Erfasst werden nur diejenigen Fälle, in denen die betroffenen Chromosomen (X oder Y) eliminiert werden (MULLER, 1940, PONTECORVO, 1941). Die Art der Versuchsanstellung entspricht dabei grundsätzlich der oben (S. 425) für die Feststellung der Eliminationshäufigkeit angewandten; im einzelnen waren die genetischen Kombinationen verschieden, was aber hier belanglos ist. MULLER wie PONTECORVO kommen zu dem Schluß, daß die so erhaltenen Einzelbrüche direkt proportional zur Dosis auftreten. Allerdings sind die beobachteten Prozentsätze so niedrig — MULLER findet nach Korrektur für spontane Elimination bei 2000 r 1,4%, PONTECORVO bei 4000 r sogar nur 1,09% der Spermien mit derartigen Einzelbrüchen —, daß bei dem Umfang des vorliegenden Materials auch Dosisexponenten bis zu 1,5 nicht ausgeschlossen sind.

Ein andersartiges Untersuchungsverfahren liegt den *cubitus interruptus*-Versuchen zugrunde. Bei ihnen wird die Häufigkeit bestimmter Zwei-Bruch-Mutationen festgestellt, bei denen der eine Bruch ein bestimmter ist und in nächster Nähe von ci^+ liegen muß, während der zweite irgendwo im autosomalen oder in einem Teil des Heterochromatins der Geschlechtschromosomen auftritt. Derartige Zwei-Bruch-Mutationen müssen in der Häufigkeit $y_2 = (1 - e^{-k_1 D})(1 - e^{-k_2 D})$ auftreten, wobei k_1 die mittlere Mutationskonstante für den ci -Bruch, k_2 die für den heterochromatischen Bruch darstellt. Die Ergebnisse über die Häufigkeit derartiger Chromosomenmutationen auch von den früheren Untersuchern sind von EBERHARDT (1939) zusammengefaßt. Aus ihnen ist auf eine direkte Proportionalität zur Dosis geschlossen worden. Eine solche Proportionalität ist, wie sich aus der angeführten Gleichung ergibt, dann zu erwarten, wenn bei erfassbaren Häufigkeiten von ci -Brüchen die Häufigkeit der heterochromatischen Brüche so groß ist, daß $e^{-k_2 D}$ praktisch gleich 0 wird. In diesem Fall würde sich die Gleichung vereinfachen zu $y = 1 - e^{-k_1 D}$, also einer Eintrefferbeziehung, die nur die Bruchhäufigkeit des ci -Bruches angeben würde. Solange aus den

Befunden die praktisch lineare Abhängigkeit der *ci*-Rekombinationen anerkannt werden mußte, war diese zuerst in allgemeiner Form von mir (vgl. Mitt. I) gegebene Erklärung die einzig mögliche, um den Widerspruch zwischen den Dosisbeziehungen von gewöhnlichen und von *ci*-Mehrbruch-Mutationen zu beseitigen. Auf eine Konsequenz dieser Auffassung hat MULLER (1940) hingewiesen. Wenn k_2D so groß ist, wie es für eine geradlinige Proportionalität notwendig ist, so sollten die gleichzeitig auftretenden Nicht-*ci*-Verlagerungen erheblich häufig sein. Tatsächlich müßten sie die der Gleichung $y = e^{-k_1D} [1 - e^{-k_2D} (1 + k_2D)]$ entsprechende Häufigkeit rein heterochromatischer Zweibruch-Mutationen noch um die Häufigkeit der euchromatischen Verlagerungen übersteigen. Setzt man z. B. das Verhältnis von $k_2 : k_1 = 100$, so kämen auf eine *ci*-Chromosomenmutation rund 40 heterochromatische Zweibruch-Mutationen. Nimmt man noch eine ähnlich große Anzahl von euchromatischen Zweibruch-Mutationen hinzu, so ergibt sich ein Verhältnis von *ci*-: Nicht-*ci*-Mutationen, das höher als das beobachtete liegt. Auch unter diesen Bedingungen liegt aber noch keine direkte Proportionalität für den *ci*-Bruch vor, sondern eine Dosisbeziehung, die man in Annäherung durch den Exponenten $p = 1,4$ ausdrücken kann. Die von EBERHARDT gefundenen Mutationsprozente zeigen nun entgegen seiner Deutung tatsächlich keine lineare Dosisproportionalität, sondern steigen annäherungsweise ebenfalls mit dem Exponenten 1,4, wie ihn ähnlich auch MULLER angibt. Die Voraussetzungen für die von mir gegebene Deutung bestehen somit nicht im ursprünglich angenommenen Umfang. Die Methode verdient aber trotzdem eine genauere Ausarbeitung ihrer Grundlagen, wenn auch durch sie der Einzelbruch nur bedingt erfaßt wird.

Weiterhin hat MAINX (1940) Aussagen über die Bruchhäufigkeit zu machen versucht auf Grund der strahleninduzierten Trennung der attached-X-Chromosomen. Man möchte annehmen, daß es sich bei dieser Trennung sowohl um Ein- wie Mehrtreffer-Fälle handelt; doch dürfte die Trennung durch einen Bruch wohl nicht einfach als Zerlegung in 2 Einzelchromosomen, sondern vielleicht als induziertes Crossing-over zwischen XX und Y anzusehen sein. Das Material von MAINX erlaubt noch keine Entscheidung; seine Dosiskurve ist zu abweichend. Hier sind weitere Untersuchungen unter gleichzeitiger cytologischer Prüfung der Trennungschromosomen notwendig.

Die umfangreichsten Bestimmungen der Bruchhäufigkeit liegen in der Ringchromosomenuntersuchung der vorliegenden Arbeit vor. Hier werden nicht nur die offengebliebenen, sondern auch die wiedervereinigten (zu Doppelringen führenden) Einzelbrüche der ganzen X-Chromosomen erfaßt. Gegen die vorläufig mitgeteilten Ergebnisse (BAUER, 1939¹) sind von MULLER (1940) und seinem Schüler PONTECORVO (1941)

¹ Verh. internat. Vererb.-Kongr. Edinburgh.

Einwendungen gemacht, die bei MULLER darin gipfeln, das ganze Verfahren sei ungeeignet:

"Unfortunately, however, BAUER's sex-ratio technique fails to distinguish between the reduction of the ratio of females to males caused by these X-chromosome losses (of all kinds taken together), and that caused by the induction in the X of dominant zygote-lethal changes of various possible types (gene mutations, and gross and minute structural changes). In fact, as the losses might have caused but a minor part of the observed effect, the linearity of the curve as a whole might merely have been an expression of the already known linearity of the curve for gene mutations and minute rearrangements."

Unglücklicherweise übersieht MULLER dabei die selbstverständliche Voraussetzung, daß Kontrollexperimente mit X^+ vorlagen (BAUER und WESCHENFELDER, 1938) und daß tatsächlich erst ihr Vergleich mit den X^c -Versuchen den Anstoß zu dieser Untersuchung gab. Wie oben im einzelnen begründet ist, zeigt eben dieser Vergleich, daß alle von MULLER als komplizierend angenommenen zygotisch-letalen Mutationen in ihrer Häufigkeit zu gering sind, um für die Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses berücksichtigt werden zu müssen. MULLER'S Einwand ist also ohne Sinn und um so unverständlicher als MULLER die Mitteilung von BAUER und WESCHENFELDER zugänglich war und von ihm auch in seiner *Drosophila*-Bibliographie angeführt worden ist. Den gleichen Fehler macht auch PONTECORVO in seinen vorsichtiger gehaltenen Einwänden. Diese können daher ebenso wie seine Berechnungen, in denen er den Anteil der wirklichen Einbruch-Fälle und der sonstigen im weiteren Sinne dominanten Letalfaktoren trennen will, hier unberücksichtigt bleiben. Erwähnt sei nur noch, daß PONTECORVO erwägt: "that the mechanism of losses may be entirely different from that proposed in this (PONTECORVO'S, B.) paper, as for instance by some action of the radiation on the centromere or on achromatic constituents of the mitotic apparatus." Daß auch diese Möglichkeiten mit dem Unterschied der Ergebnisse an X^+ und X^c hinfällig sind, genügt hier erwähnt zu werden.

Aus den Ringchromosomenversuchen leitet sich somit der erste und umfangreichste Beweis für die Eintreffer-Auslösung der Einzelbrüche ab, der besonders durch die Untersuchung CREIGHTON'S sowie allgemein durch die Pollenzellanalysen bestätigt worden ist.

Der Vergleich aller angeführten Arbeiten macht den schon öfter hervorgehobenen Tatbestand deutlich, daß die Mutationskonstanten für den Einzelbruch bei den verschiedenen Arten und auch Zellen sehr verschiedene Größe zeigen. Der höchste Wert findet sich in den Spermatogonien und Embryonalzellen von *Chorthippus longicornis*, wo für $D = 1 \text{ r } k = 1,2 \cdot 10^{-1}$ ist, der geringste Wert in den Spermien von *Drosophila melanogaster*, wo die vergleichbare Konstante für den gesamten Chromosomenbestand (als rund Fünffaches der oben für das X berechneten) etwa $k = 7 \cdot 10^{-4}$ beträgt. Es besteht also eine Spanne

von mehr als 3 Größenordnungen. Eine Erklärung dieses großen Unterschiedes muß solange aufgeschoben werden, bis über die Bedeutung der Mutationskonstante k , des formalen Treffbereiches, und ihre Beziehung zum realen Treffbereich (vgl. RIEHL, TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER, 1941) eine bessere Einsicht gewonnen worden ist. Die Verwendung von dichter ionisierenden Strahlungen erscheint hierfür geboten. Die wenigen Versuche, in denen bisher Neutronen zur Bestrahlung verwandt worden sind, erscheinen noch widerspruchsvoll. Während bei Letalfaktoren von ZIMMER und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1938) die hypothetisch geforderte Senkung der Mutationsrate beobachtet wurde, findet THODAY (1942) sowohl für Rekombination wie für Einzelbrüche eine Zunahme der Mutationsprozente bei Neutronendosen von gleicher Größe wie in den Röntgenvergleichsversuchen. Zwar überrascht die Zunahme der Rekombinationen nicht, weil sie bei Neutronen auch als Eintreffer-Ereignisse dann auftreten können, wenn beide Brüche durch eine Ionisationsbahn ausgelöst werden. Die Einzelbrüche sollten aber wie die Letalfaktoren bei Neutronen in geringerer Häufigkeit auftreten, wenn sie wie die Letalfaktoren auf eine Atomanregung oder eine Einzel-Ionisation zurückgehen (ZIMMER und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, 1942). THODAY gibt seinen Befunden die Deutung, daß für den Einzelbruch mehrere Ionisationen notwendig sind. Da die Brüche Eintreffer-Ereignisse sind, müssen die Treffer den Ionenhäufchen entsprechen. Um diese nicht unwahrscheinliche Annahme zu prüfen, bedarf es eines Vergleiches der Einflüsse von Strahlungen, die solche Ionenhäufchen in verschiedener Häufigkeit erzeugen. MULLER (1940) hat den Vergleich mit γ - und weichen Röntgenstrahlen vorgenommen. Er findet keinen Unterschied in der Translokationshäufigkeit. Das würde gegen THODAYS Deutung sprechen. Doch läßt MULLERS Material zu wünschen übrig. Andererseits ist es auch nicht ausgeschlossen, daß in *Drosophila*-Spermien die Brüche schon durch Einzelionisationen ausgelöst werden, daß also biologische bedingte Unterschiede vorliegen. Das muß durch weitere Untersuchungen geprüft werden.

3. Die Natur des primären Bruchereignisses und andere offene Fragen.

Die Auslösung der Brüche erfolgt in der Interphase oder beginnenden Prophase, ihre Untersuchung frühestens in der folgenden Prometaphase. Was in diesem Zeitraum vor sich geht, entzieht sich der unmittelbaren Beobachtung, besonders sind bisher keine Feststellungen darüber möglich gewesen, welcher Art die ersten Bestrahlungswirkungen sind. Es lassen sich deshalb nur unbestimmte Vorstellungen hierüber machen. Die primären Treffervorgänge können folgende cytologischen Veränderungen auslösen: 1. echte Brüche, 2. bruchfähige Stellen im Chromosom, die aber ohne manifesten Bruch Rekombinationen eingehen können, 3. nur rekombinationsfähige Stellen, bei denen Fragmente nur als

rückläufige Rekombinationen zwischen Tochterchromatiden auftreten können (vgl. hierzu Mitt. I und BAUER, 1942b).

Bei den echten Brüchen würden dann freie Bruchenden auftreten. Diese Bruchenden könnten entweder offen bleiben oder sich untereinander vereinigen. In den Mitoseanalysen läßt sich außer den offenen Einzelbrüchen nur der Teil der vereinigten erfassen, der zu rückläufigen Ein-Bruch-Rekombinationen führt. Wieviele Brüche eine Wiedervereinigung zur Ursprungsanordnung erfahren, ist nicht feststellbar. Daß diese letzteren die übrigen an Zahl erheblich übertreffen müssen, geht aber schon aus dem Verhältnis der Ein- zu den Zwei-Bruch-Mutationen hervor. Oben ist gezeigt worden, daß im Zellkern eine größere Anzahl von Rekombinationsbereichen angenommen werden muß, um die beobachtete quadratische Proportionalität bis zu verhältnismäßig großen durchschnittlichen Häufigkeiten der Zwei-Bruch-Mutationen zu erklären. Unter diesen Bedingungen muß die Anzahl der Rekombinationsbereiche mit nur einem Bruch erheblich hoch sein. Daß sich offene Brüche nicht in entsprechender Menge beobachten lassen, kann dann nur darauf beruhen, daß zum größeren Teil eine Wiedervereinigung der zusammengehörigen Bruchenden erfolgt. Die Wahrscheinlichkeit für diese Wiedervereinigung w_r muß also zwischen 0,5 und 1 liegen.

Falls nicht echte Brüche ausgelöst werden, sondern rekombinationsfähige Stellen, so gilt für sie dasselbe; bei gleichzeitiger Neigung zur Fragmentation bedeutet $1 - w_r$ die Häufigkeit des Auftretens offener Brüche, bei nur rekombinationsfähigen Stellen die Häufigkeit für rückläufige Ein-Bruch-Rekombinationen.

Der Vergleich der Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses in X^+ und X^c -Versuchen bietet nun die Möglichkeit, einen Anhaltspunkt für den Wert von w_r zu finden. Hierfür muß noch einmal auf die oben (S. 413) dargestellten Versuche zurückgekommen werden. In den X^+ -Versuchen wurde bei Bestrahlung mit 4000 r eine geringe Senkung des ♀-Prozentsatzes gefunden. Als Ursachen hierfür kamen neben Einzelbrüchen dominant-letale Genmutationen, Deletionen u. a. in Betracht, die auch sicher gemeinsam beteiligt sind. Die Einzelbrüche werden hierbei nur als offene oder dyszentrisch wiedervereinigte Brüche wirksam, während bei Brüchen in X^c zusätzlich die euzentrischen Wiedervereinigungen erfaßt werden. Der Unterschied im ♀-Prozentsatz bei X^+ - und X^c -Versuchen muß also auf dem Unterschied in der Häufigkeit offener bzw. dyszentrisch vereinigter Brüche einerseits und euzentrisch vereinigter andererseits beruhen. Für den Vergleich mit X^c kann man annehmen, daß die Geschlechtsverschiebung in den X^+ -Versuchen zur Gänze auf Einzelbrüchen beruht; man macht durch die Vernachlässigung der übrigen Mutationen einen Fehler zugunsten der offenen oder dyszentrisch vereinigten Brüche und erhält so ein zu kleines w_r . Der Vergleich läßt sich zahlenmäßig folgendermaßen durchführen: Aus den

Versuchen der Tabelle 2 lassen sich für den ♀-Ausfall bei Letalität $(1 - N_2/N_3) \cdot 100$ aus den korrigierten ♀-Anzahlen in den beiden Versuchen die Werte 7,28% und 4,92% berechnen. Wenn auch beide Versuche wegen der verschiedenen Genotypen, die dabei verwandt wurden, nicht voll vergleichbar sind, so kann man sie doch, wiederum zugunsten der X^+ -Werte, zusammen als 7% ansetzen. Mit diesem Wert muß der entsprechende für 4000 r aus dem X^c -Versuch (Tabelle 8) von rund 41% verglichen werden. Aus diesem läßt sich ein kD -Wert nach Gleichung (8) berechnen, der sich auf 0,615 beläuft; mit ihm kann nun in eine der Gleichung (7) entsprechenden Formel für X^+ eingegangen werden.

Diese lautet $1 - \frac{N_2}{N_3} = \frac{b'_X - t_{YL}}{Z' - t_{YL}}$, wobei b'_X den als offene oder dys-

zentrisch vereinigte Brüche vorliegenden Anteil von b_X darstellt. Der Gleichung (8) entspricht dann die Beziehung $1 - \frac{N_2}{N_3} = 1 - \frac{e^{(1-n)kD}}{1 + kD}$, wenn

$b'_X = 1 - e^{-n \cdot kD}$ gesetzt wird, wobei n den dyszentrischen Anteil von b_X angibt. Aus dieser Gleichung folgt $n = 0,35$. Das heißt, daß nur rund ein Drittel der Brüche offen bleibt oder zu dyszentrischen Einbruch-Rekombinationen führt. Bei diesem Ergebnis kommt nun außer den schon angeführten zu günstig für X^+ eingesetzten Zahlen noch hinzu, daß bei der Berechnung von kD nach der Gleichung (8) mit einem maximal hohen Wert für t_{YL} gerechnet wird. Wie oben gezeigt worden ist, liegt die ♀-Defizit-Kurve zwischen einer Eintreffer- und der hyperbolischen Kurve. Mit einer Verringerung von t_{YL} sinkt aber auch n , was sich ohne weiteres zeigt, wenn man t_{YL} gleich Null setzt. Es liegt dann für X^+ die Beziehung $1 - \frac{N_2}{N_3} = 1 - e^{-n \cdot kD}$ vor, die nach Berechnung von kD (für X^c) aus $1 - \frac{N_2}{N_3} = 1 - e^{-kD}$ und Einsetzen dieses

Wertes (0,53) ein $n = 0,14$ ergibt. Es läge der Anteil der offenen oder dyszentrischen Brüche hiernach zwischen 0,14 und 0,35, die Wahrscheinlichkeit für Wiedervereinigung w_r damit zwischen 0,65 und 0,86. Auch jetzt liegt die untere Grenze aber noch zu tief; b'_X ist definiert als die Summe der offenen oder dyszentrisch vereinigten Einzelbrüche sowie der Brüche, die sich an dyszentrischen reziproken Translokationen beteiligen. Nun liegt kein Anlaß vor, die dyszentrischen Translokationen für weniger zahlreich zu halten als die euzentrischen; denn bei ihnen wird die Entscheidung, ob eine dyszentrische oder euzentrische Vereinigung erfolgt, durch die Lagebeziehung der Abschnitte zweier Chromosomen gefällt, und diese muß zufallsgemäß sein (vgl. Mitt. 1). Wenn also die beiden Translokationsarten gleich wahrscheinlich sind, so muß, um ein von 0,5 abweichendes w_r für alle Brüche zu ergeben, die euzentrische Wiedervereinigung der Einzelbrüche noch häufiger sein als eben angegeben. Schließlich ist bei allen Bruchbestimmungen die Möglichkeit der euzentrischen Wiedervereinigung der Brüche zur

vollständig normalen Anordnung, bei X^c also zu normal teilungsfähigen Ringen, nicht zu erfassen. Je nach der Häufigkeit einer derartigen Wiedervereinigung würde sich w_r dem Grenzwert 1 entsprechend weiter nähern. Der untere Grenzwert von w_r , 0,65, ist nach allen sicher zu niedrig angesetzt. Daß es sich bei diesen Angaben nur um eine mittlere Wahrscheinlichkeit handelt, die ein unterschiedliches Verhalten etwa bestimmter Stellen der Chromosomen nicht ausschließt, braucht nicht besonders betont zu werden.

Bei der Unsicherheit der Aussagen über die Natur des primären Bruchereignisses haben es die Untersucher bisher im allgemeinen unterlassen, konkretere Angaben darüber zu machen. Eine bestimmte Stellungnahme findet sich nur bei MARQUARDT (1941a, 1942a). Er nimmt im Sinne der Bruchhypothese einzelne primäre Bruchvorgänge an, doch sind diese nach ihm von zweierlei Art; neben rekombinations- und fragmentationsfähigen Stellen nimmt er eine zweite Art von Primäränderungen an, die nur mit solchen der ersten Art, nicht aber unter sich rekombinationsfähig sind. Diese hypothetische Erweiterung der Bruchhypothese, die an sich nicht unmöglich ist, wird durch das von MARQUARDT beigebrachte Beweismaterial allerdings nicht gestützt.

Des Näheren habe ich zu MARQUARDT's Hypothese schon Stellung genommen (BAUER, 1942a), worauf hier für Einzelheiten nur verwiesen wird. In einer Erwiderung sucht MARQUARDT (1942b) durch ausführlichere Begründung seine Ansicht aufrechtzuerhalten. Dazu sei hier nur kurz bemerkt, daß auch durch diese ausführlichere Darstellung die Beweiskraft seiner Argumente nicht erhöht, aus ihnen aber klar wird, daß MARQUARDT aus der Bruchhypothese Folgerungen zieht und dann widerlegt, die von der Bruchhypothese nicht gefordert werden. Es ist hier nicht der geeignete Zusammenhang, um MARQUARDT's Hypothese noch einmal ausführlich zu behandeln; das soll nach Durchführung einer Untersuchung an einem den Pollenzellen vergleichbaren Material geschehen. Jedenfalls bleibt die Sachlage so, wie ich sie (1942a) schon gekennzeichnet habe; auch MARQUARDT's Befunde lassen sich noch ohne Schwierigkeiten auf dem Boden der Bruchhypothese deuten¹.

Ebensowenig Genaues wie über die primär ausgelösten Brüche läßt sich über die Vorgänge sagen, die zur Neuvereinigung, zur Wiedervereinigung bzw. zum „Ausheilen“ oder zum Offenbleiben der Brüche führen. Um in diese Vorgänge einen Einblick zu gewinnen, müssen die Folgen der Veränderung der Bestrahlungsbedingungen analysiert werden.

¹ Es sei hier nur hinzugefügt, daß die von MARQUARDT als Beleg für seine Hypothese verwertete Tatsache, daß Fragmente und Rekombinationen eine Poisson-Verteilung auf die einzelnen Kerne sowohl einzeln, wie auch gemeinsam (bei Wertung der Rekombination als 1 Ereignis) ergeben, genau so nach der Bruchhypothese erwartet wird. Nach beiden Hypothesen ist die kombinierte Poisson-Verteilung nur solange möglich, wie es sich bei Fragmentationen und Rekombinationen um voneinander unabhängige, also in verschiedenen Rekombinationsbereichen aufgetretene Veränderungen handelt. Hierin liegt also ein weiterer Hinweis auf die oben abgeleitete Tatsache, daß die Rekombinationsbereiche in den Pollenzellkernen zahlreich sein müssen (vgl. S. 436f).

Aus der Tatsache, daß bei den Chromosomenmutationen die Mutationsrate wellenlängenunabhängig ist (MARSHAK, 1937; EBERHARDT, 1939; MÜLLER, 1940; FABERGÉ, 1940b sowie oben S. 433), ergibt sich, daß man nicht erwarten kann, die Häufigkeit der Primärbrüche selbst durch zusätzliche Bestrahlungsbedingungen abzuändern. Was gegebenenfalls abgeändert wird, sind die genannten sekundären Vorgänge. Ihre Beeinflussbarkeit ließ sich schon nach den oben (S. 439) genannten Befunden von SAX vermuten, nach denen der Einzelbruch bei *Tradescantia* nur für eine beschränkte Zeit rekombinationsfähig ist. Diese Rekombinationszeit scheint temperaturabhängig zu sein (SAX und ENZMANN 1939, SAX 1940); in Versuchen mit verschiedener Temperatur während und auch nach der Bestrahlung ließen sich verschiedene Mutationshäufigkeiten beobachten; allerdings sind die Ergebnisse nicht leicht deubar, da sich bestrahlte Interphasen und bestrahlte Prophasen in ihrer Temperaturbeziehung entgegengesetzt verhielten.

Ob in reifen *Drosophila*-Spermien ähnliche Vorgänge ablaufen, ist noch nicht geklärt. Nach dem Aufbau der Spermienkerne ist es sehr unwahrscheinlich, daß in ihnen selbst die Rekombination der Brüche stattfindet; vielmehr deutet alles darauf hin, daß sie erst nach der Befruchtung während der Umwandlung des Spermienkopfes zum Vorkern erfolgt (vgl. Mitt. I). Dagegen wäre eine „Ausheilung“ der Brüche auch schon im Spermienkopf denkbar; ob sie vorkommt, ist aber noch unbekannt. Sie müßte angenommen werden, wenn sich an reifen Spermien ein Zeitfaktoreinfluß aufzeigen ließe. Einen solchen hat bisher nur EBERHARDT (1939) angegeben; gegenteilige Feststellungen haben KAUFMANN (1939), MÜLLER (1940) und DUBININ, KHVOSTOVA und MANSUROVA (1941) gemacht; ihnen schließen sich die wenigen oben (S. 434) angeführten Befunde an¹. Ebenso unsicher ist die Antwort auf die Frage nach der Temperaturbeeinflussbarkeit der Chromosomenmutationsrate bei *Drosophila*. Positiven Angaben von MICKEY (1939) stehen negative von MÜLLER (1940) gegenüber.

Im ganzen aber gewinnt man aus den vorliegenden Arbeiten den bestimmten Eindruck, daß im *Drosophila*-Spermium keine sekundären Vorgänge an den Brüchen ablaufen, daß diese vielmehr in der primär induzierten Häufigkeit einfach bis zur Befruchtung gestapelt werden. Damit läge dann ein grundsätzlicher, aber völlig verständlicher Unterschied zwischen den Zellen im Mitosezyklus und den Spermien vor. Für eine endgültige Klärung bedarf es aber noch weiterer Untersuchungen.

¹ (Zusatz bei der Korr.) Genaue Untersuchungen in TIMOFÉEFF-RESSOVSKY'S Laboratorium scheinen den Unterschied zwischen den Befunden EBERHARDT'S und der übrigen Untersucher zu klären. Herr Dr. CATSCH findet einen Zeitfaktoreinfluß nur bei unentwickelten Spermien (Kopulationen nach dem 1. Tag), nicht bei reifen Spermien (Kopulationen am 1. Tag).

Noch ein weiterer Unterschied scheint zwischen den *Drosophila*-Chromosomen und denen bestimmter pflanzlicher Gewebe zu bestehen. MCCLINTOCK (1939) hat gezeigt, daß im Embryogewebe vom Mais — nicht aber im Endosperm — offene Bruchenden, die nach mechanischem Bruch von durch Austausch gebildeten Chromatidenbrücken entstanden sind, stabil werden, also sich weiterhin wie normale Chromosomenenden verhalten können. Es liegt kein Hinweis auf ein solches Verhalten der Bruchenden bei *Drosophila* vor. Dieses ließe sich natürlich nur cytologisch oder durch Austauschanalyse erkennen. Auch hier ist das Ring-X-Chromosom insofern geeignet, als bei ihm durch einen Bruch keine Deletionen entstehen, sondern offene Chromosomen mit je nach dem Bruchort medianem bis subterminalem Spindelansatz; es könnten also alle Fälle stabilisierter Bruchenden erfaßt werden, während bei X^+ nur die mit einem Bruch nahe dem Spindelansatz oder dem freien Ende erhalten würden. Voraussetzung ist allerdings, daß die Stabilisierung in X^c beide Bruchenden zugleich betrifft. Schon CATCHESIDE (1938) hat in diesem Zusammenhang Speicheldrüsenchromosomen von Larven untersucht, die aus bestrahlten X^c -Spermien hervorgegangen sind. Aus dem Fehlen offener X-Chromosomen hat er allerdings den Schluß gezogen, daß induzierte Bruchenden sich immer vereinigen. Ein Offenbleiben der Brüche bis nach der Längsspaltung mit anschließender dyszentrischer Ein-Bruch-Rekombination, die CATCHESIDE nicht erwogen hat, ist demgegenüber durchaus möglich und wird auch durch die Untersuchungen PANSIENS (1941) an unvollständigen Translokationen bewiesen. Die Angabe CATCHESIDES, daß sich in der F_1 keine stabilen offenen Ringchromosomen auffinden lassen, bestätigt ein umfangreiches F_1 - (WESCHENFELDER unveröff.) und F_2 -Material (Letalfaktoranalyse). Durch diese Befunde wird natürlich nichts darüber ausgesagt, ob unmittelbar durch die Bestrahlung offene Brüche erzeugt werden. Selbst aber, wenn nur rekombinationsfähige Stellen ausgelöst werden, so führen diese doch in der 1. Furchungsteilung zu bizentrischen Doppelringen, also Chromatidenbrücken. Daß diese meistens nicht, ohne mechanisch zu brechen, einfach eliminiert werden, ist oben nachgewiesen worden. Die Letalität der Doppelringe muß eben auf fortgesetztem mechanischen Bruch und Brückenneubildung beruhen. Würden nun diese zu Beginn der Furchung erzeugten Bruchenden stabil, wie es beim Mais vorkommt, so müßten dadurch (mindestens gelegentlich, wenn die durch nicht genau mediane Lage der beiden Bruchstellen bedingten Deletionen und Duplikationen klein sind) lebensfähige Zygoten mit nachweisbaren offenen X-Chromosomen entstehen. Ihr Fehlen beweist somit das Fehlen einer Stabilisierung der Bruchenden. Zum Unterschied von diesem Verhalten der Brüche in Spermien sollen nach RAPOPORT (1940) bei Bestrahlung der Oocyten-Chromosomen von *Drosophila* erhaltungsfähige Bruchenden auftreten. Einen vollen Beweis für diese Behauptung kann man der

vorläufigen Mitteilung noch nicht entnehmen. Dagegen haben HUGHES-SCHRAEDER und RIS (1941) bei der Coccide *Steatococcus tuberculatus* eindeutig gezeigt, daß in den Furchungsteilungen die — sicher unmittelbar durch die Bestrahlung ausgelöst — freien Bruchenden stabil werden und normales Teilungsverhalten der Chromosomenfragmente erlauben. Auch bei diesem Objekt finden sich Unterschiede verschiedener Zellen; das geschilderte Verhalten trifft nicht für die Spermatocyten zu, in denen es nach Bestrahlung auch zu Translokationen kommt. Welche Bedingungen den Unterschied im Verhalten der Bruchenden bei verschiedenen Objekten und bei ihnen in verschiedenen Zellarten herbeiführen, bleibt zu klären.

Die vorstehende Übersicht zeigt, daß von dem eigentlichen Bruchgeschehen bisher erst die äußerlichsten Vorgänge erfaßt werden. Zu der Frage, was ein Bruch ist und worauf seine Verhaltensweisen zurückzuführen sind, ist ein weiterer Fortschritt nicht nur durch eine vertiefte strahlenbiologische Analyse, sondern wesentlich auch von einer Vertiefung der Kenntnisse über den physikochemischen Feinbau der Chromosomen her zu erhoffen.

Zusammenfassung.

1. X- und Y-Chromosomen unterscheiden sich in dem Ausmaß, in dem in ihnen zygotisch-letale Mutationen ausgelöst werden. Je größer der Unterschied ist, um so mehr kommt es nach Spermienbestrahlung zu einer Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zuungunsten der ♀♀ in der F₁.

2. Der Grad dieser Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses ist verschieden bei Bestrahlung von ♂♂ mit normalem (X⁺) oder ringförmigen (X^c) X-Chromosom.

3. In X⁺-Chromosomen können als zygotisch-letale Mutationen vorkommen: Dominant-letale Genmutationen und von Chromosomenmutationen Deletionen und dyszentrische Ein-Bruch-Rekombinationen. In Y-Chromosomen sind solche Mutationen nicht letal. Unterschiede in der Häufigkeit zygotenletaler dyszentrischer, interchromosomaler Mehr-Bruch-Rekombinationen könnten dann bestehen, wenn Unterschiede in der Bruchhäufigkeit zwischen X⁺- und Y-Chromosomen vorlägen.

4. In X^c-Chromosomen kommen als zusätzliche zygotenletale Mutationen die euzentrischen reziproken Translokationen und andere euzentrische interchromosomale Mehr-Bruch-Rekombinationen vor. Außerdem führen euzentrische Ein-Bruch-Rekombinationen in X^c zu bizenitrischen doppeltgroßen Ringchromosomen, die entweder (bei anschließendem Chromatidenbruch) zygotenletal sind oder (bei Elimination) zur Geschlechtsumwandlung führen und so an der Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses auch beteiligt sind.

5. In der F_1 nach Bestrahlung der $X^+-P. \delta \delta$ findet sich (bei 4000 r) eine nur geringe Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses (Tabelle 2, S. 413). Die Häufigkeit aller unter 3. angeführten intrachromosomalen Mutationen ist also klein bzw. bei Translokationen in X^+ - und Y-Spermien nicht verschieden.

6. Gleichartige Versuche mit $X^c. \delta \delta$ führen zu einer starken Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses. Da nach $X^+-\delta \delta$ -Bestrahlung keine nennenswerte Verschiebung vorliegt, können in den X^c -Versuchen die Y-Spermien mit den X^+ -Spermien ohne wesentlichen Fehler gleichgesetzt werden. Die Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses ist also ein Maß für die Unterschiede der Mutabilität von X^+ - und X^c -Chromosomen und damit für die Häufigkeit der zu bizentrischen Doppelringen führenden euzentrischen Ein-Bruch-Rekombinationen und der sich an euzentrischen Translokationen beteiligenden Brüche in X^c .

7. Die Dosisabhängigkeit der Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses wurde in 2 sich durch die Außenbedingungen unterscheidenden Versuchsgruppen untersucht, von denen die erste 13 Dosen von 250 bis 6000 r, die zweite 11 andere Dosen von 75—3500 r umfaßte. Das Geschlechtsverhältnis sinkt von 1:1 in den Kontrollen auf weniger als 1:2 bei 6000 r (Tabelle 4, S. 419). Die Werte $1 - 2 N_q/N$ stehen in nahezu linearer Abhängigkeit von der Dosis, doch zeigt die Proportionalitätskurve eine leichte Überkrümmung (Abb. 6, S. 420).

8. Eine überkrümmte Eintreffer-Kurve ist nur unter den folgenden Bedingungen zu erwarten: Wenn b_X die Häufigkeit aller wirksamen (zu bizentrischen Doppelringen und zu eu- und dyszentrischen Translokationen) Brüche in X^c und wenn t_{YL} die der dyszentrischen Translokationen zwischen Y und Autosomen bezeichnet, so gilt unter der Annahme der Zygotenletalität der Doppelringe die Beziehung $1 - N_q/N_\delta = \frac{b_X - t_{YL}}{1 - t_{YL}}$. Folgt nun b_X einer Eintrefferkurve, t_{YL} der zugehörigen Zweitreffer-Kurve (gleiches k), so ist die Dosisproportionalität durch die hyperbolische Funktion $1 - N_q/N_\delta = 1 - \frac{1}{1 + kD}$ gegeben, die graphisch gegenüber einer Eintrefferkurve eine stärkere Krümmung im Anfangsteil zeigt. Dieselben Beziehungen erhält man bei Annahme der Elimination der bizentrischen Doppelringe für die Werte $1 - 2 N_q/N$. Verringerte Krümmung ergibt sich, wenn die Translokationen einer Zweitreffer-Kurve von kleinerem k folgen. Die experimentelle Kurve liegt zwischen einer Eintreffer- und der hyperbolischen Kurve (Abb. 8, Tabelle 8 und 9). Damit ist die Annahme bewiesen, daß die Einzelbrüche direkt proportional zur Dosis auftreten. Die Streuung des Materials ist zu groß, um aus der experimentellen Kurve darüber hinaus genaue Angaben über das Zahlenverhältnis von Ein- und Zweitreffer-Ereignissen zu machen.

9. Versuche mit einer Y-2-Translokation zeigten, daß (im Höchstmaß) 18,7% der bizentrischen Doppelringe eliminiert werden; alle übrigen führen zum Absterben der Zygoten (Tabelle 5 und 7).

10. Unter Berücksichtigung dieses Verhältnisses von Elimination und Letalität läßt sich eine Bruchhäufigkeit des X von $k = 0,12-0,16$ bei 1000 r berechnen. Brüche stellen damit die häufigste Bestrahlungsreaktion der Chromosomen dar.

11. Einige Versuche mit abgeänderten Bestrahlungsbedingungen weisen darauf hin, daß die Bruchhäufigkeit von der Wellenlänge der benutzten Strahlung (Grenzstrahlen gegenüber mittelharten Röntgenstrahlen) und von der Art der zeitlichen Dosisverabfolgung (Fraktionierung) unabhängig ist (Tabelle 10).

12. Eine Übersicht über die Befunde an Pollenzellen und *Drosophila*-Spermien zeigt, daß allgemeine Übereinstimmung der Beobachtungen mit den Grundforderungen der Bruchhypothese besteht. Die Ergebnisse über eine rein quadratische Dosisproportionalität bis zu Bruchhäufigkeiten ~ 1 je Kern an Pollenzellen lassen sich nur unter der Annahme einer größeren Anzahl von Rekombinationsbereichen im Kern, also stärker eingeschränkter Beweglichkeit der Bruchstellen bzw. Bruchenden verstehen. Spermienkerne scheinen gegenüber Kernen aus Teilungsgewebe dadurch gekennzeichnet zu sein, daß bei ihnen die ausgelösten Brüche, ohne sekundäre Veränderungen durchzumachen, bis zur Befruchtung gestapelt werden.

Schriftenverzeichnis.

- Bauer, H.: Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. I. Bruchhäufigkeit, -verteilung und -rekombination nach Speicheldrüsenuntersuchung. *Chromosoma* **1**, 343—390 (1939a). — Die Dosisabhängigkeit röntgeninduzierter Chromosomenmutationen im Ring-X-Chromosom von *Drosophila melanogaster*. *Naturwiss.* **27**, 821, 822 (1939 b). — Die Entstehung von Chromosomenmutationen durch Röntgenbestrahlung. Eine Stellungnahme zu den Arbeiten von H. Marquardt. *Z. Bot.* **38**, 26—41 (1942a). — Der Aufbau der Chromosomen und seine Abänderung. *Jena. Z. Naturwiss.* **75**, 300—323 (1942 b). — Bauer, H., M. Demerec and B. P. Kaufmann: X-ray induced chromosomal alterations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **23**, 610—630 (1938). — Bauer, H. u. R. Weschenfelder: Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses in der F_1 nach Röntgenbestrahlung von *Drosophila*. *Naturwiss.* **26**, 820 (1938). — Camara, A.: Rurutas e rearranjos cromosômicos induzidos pelos raios-X. *Sci. Genetica* **1**, 339—353 (1940). — Catcheside, D. G.: The effect of X-ray dosage upon the frequency of induced structural changes in the chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *J. Genet.* **36**, 307 bis 320 (1938). — Creighton, M.: The effects of X-rays on mitotic chromosomes and cell division in *Chorthippus longicornis* (Orthoptera). *J. of exper. Zool.* **87**, 347—368 (1941). — Darlington, C. D.: Recent advances in Cytology. London: J. & A. Churchill 1937. — Demerec, M. and B. P. Kaufmann: The Gene. Carnegie Inst. Washington Year Book **37** (1938). — Dubinin, N. P., V. V. Khvostova and

V. V. Mansurova: Chromosomal aberrations, lethal mutations and X-ray dosage. C. r. Acad. Sci. URSS. 31, 387—389 (1941). — Eberhardt, K.: Über den Mechanismus strahleninduzierter Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. Chromosoma 1, 317—335 (1939). — Fabergé, A. C.: An experiment on chromosome fragmentation in *Tradescantia* by X-rays. J. Genet. 39, 229—248 (1940a). — The equivalent effect of X-rays of different wave-length on the chromosomes of *Tradescantia*. J. Genet. 40, 379—384 (1940 b). — Hughes-Schrader, S. and H. Ris: The diffuse spindle attachment of coccids, verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. J. of exper. Zool. 87, 429—456 (1941). — Kaufmann, B. P.: Delay in reattachment of chromosome fragments. (In M. Demerec, B. P. Kaufmann, E. Sutton and O. T. Hinton: The Gene.) Carnegie Inst. Washington Year Book 39, 213 (1940). — Langendorff, H. u. K. Sommermeyer: Strahlenwirkung auf *Drosophila*larven. IV. Die exponentielle Schädigungskurve und der biologische Zeitfaktor bei der Einwirkung von Röntgenstrahlen auf *Drosophila*larven. Strahlenther. 68, 42—52 (1940). — McClintock, B.: The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. Genetics 23, 215—276 (1938). — The behavior in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 25, 405—416 (1939). — Mainx, F.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Trennung der attached-X-Chromosomen bei *Drosophila melanogaster*. Z. Abstammungslehre 78, 238—245 (1940). — Marquardt, H.: Die Röntgenpathologie der Mitose. III. Weitere Untersuchungen des Sekundäreffekts der Röntgenstrahlen auf die haploide Mitose von *Bellevia romana*. Z. Bot. 36, 273—386 (1941 a). — Untersuchungen über den Formwechsel der Chromosomen im generativen Kern des Pollens und Pollenschlauches von *Allium* und *Lilium*. Planta (Berl.) 31, 670 bis 725 (1941 b). — Die Bestimmung der Dosisabhängigkeit röntgeninduzierter Chromosomenveränderungen bei *Bellevia romana*. Z. Bot. 37, 241—317 (1942 a). Zur Analyse röntgeninduzierter Chromosomenveränderungen und Chromosomenmutationen. Eine Erwiderung. Z. Bot. 38, 42—64 (1942 b). — Marshak, A.: The effect of X-rays on chromosomes in different stages of meiosis. J. gen. Physiol. 19, 179—198 (1936). — The effect of X-rays on chromosomes in mitosis. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 23, 362—369 (1937). — Mickey, G. H.: The influence of low temperature on the frequency of translocations produced by X-rays in *Drosophila melanogaster*. Genetics (s'-Gravenshage) 386—407 (1939). — Morgan, L. V.: A closed X chromosome in *Drosophila melanogaster*. Genetics 18, 250—283 (1933). — Muller, H. J.: The remaking of chromosomes. The Collecting Net 13, 181—195 (1938). — An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. J. Genet. 40, 1—66 (1940). — Muller, H. J., A. I. Makki and A. R. Sidky: Gene rearrangement in relation to radiation dosage. J. Genet. 37, Nr 3 (1939). — Neuhaus, M. J.: A cytogenetic study of the Y-chromosome of *Drosophila melanogaster*. J. Genet. 37, 229—254 (1939). — Newcombe, H. B.: The action of X-rays on the cell. I. The chromosome variable. J. Genet. 43, 145—171 (1942). — The action of X-rays on the cell. II. The external variable. J. Genet. 43, 237—248 (1942). — Patau, K.: Eine neue χ^2 -Tafel. Z. Vererbungslehre 80, 558—564 (1942). — Panshin, I. B.: Experimental proof of non-union of chromosome fragments at the formation of reciprocal translocations. C. r. Acad. Sci. URSS. 30, 439—443 (1941). — Pontecorvo, G.: The induction of chromosome losses in *Drosophila* sperm and their linear dependence on dosages of irradiation. J. Genet. 41, 195—215 (1941). — Rapoport, J. A.: Proof of chromosome fragmentation. C. r. Acad. Sci. URSS. 29, 612—615 (1940). — Riek, Ch. M.: On the nature of X-ray induced deletions in *Tradescantia* chromosomes. Genetics 25, 466—482 (1940). — Riehl, N., N. W. Timoféeff-Ressovsky u. K. G. Zimmer: Mechanismus der Wirkung ionisierender Strahlen auf biologische Elementareinheiten. Naturwiss. 29, 625—639 (1941). — Sax, K.: Chromosome aberrations induced by

X-rays. *Genetics* **23**, 494—516 (1938). — The time factor in X-ray production of chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **25**, 225—233 (1939). — An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Genetics* **25**, 41—68 (1940). — Sax, K. and E. V. Enzmann: The effect of temperature on X-ray induced chromosome aberrations. *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **25**, 397—405 (1939). — Sax, K. and K. Mather: An X-ray analysis of progressive chromosome splitting. *J. Genet.* **37**, 483—490 (1939). — Schultz, J. and D. G. Catcheside: The nature of closed X-chromosomes in *Drosophila melanogaster*. *J. Genet.* **35**, 315—320 (1937). — Thoday, J. M.: The effects of ionizing radiations on the chromosomes of *Tradescantia bracteata*. A comparison between neutrons and X-rays. *J. Genet.* **43**, 189—210 (1942). — Timoféeff-Ressovsky, N. W. u. K. G. Zimmer: Über Zeitproportionalität und Temperaturabhängigkeit der spontanen Mutationsrate von *Drosophila*. *Z. Abstammungslehre* **79**, 530—537 (1941). — Zimmer, K. G. u. N. W. Timoféeff-Ressovsky: Dos metrische und strahlenbiologische Versuche mit schnellen Neutronen, II. *Strahlenther.* **63**, 528—536 (1938). — Über einige physikalische Vorgänge bei der Auslösung von Genmutationen durch Strahlung. *Z. Abstammungslehre* **80**, 353—372 (1942).

